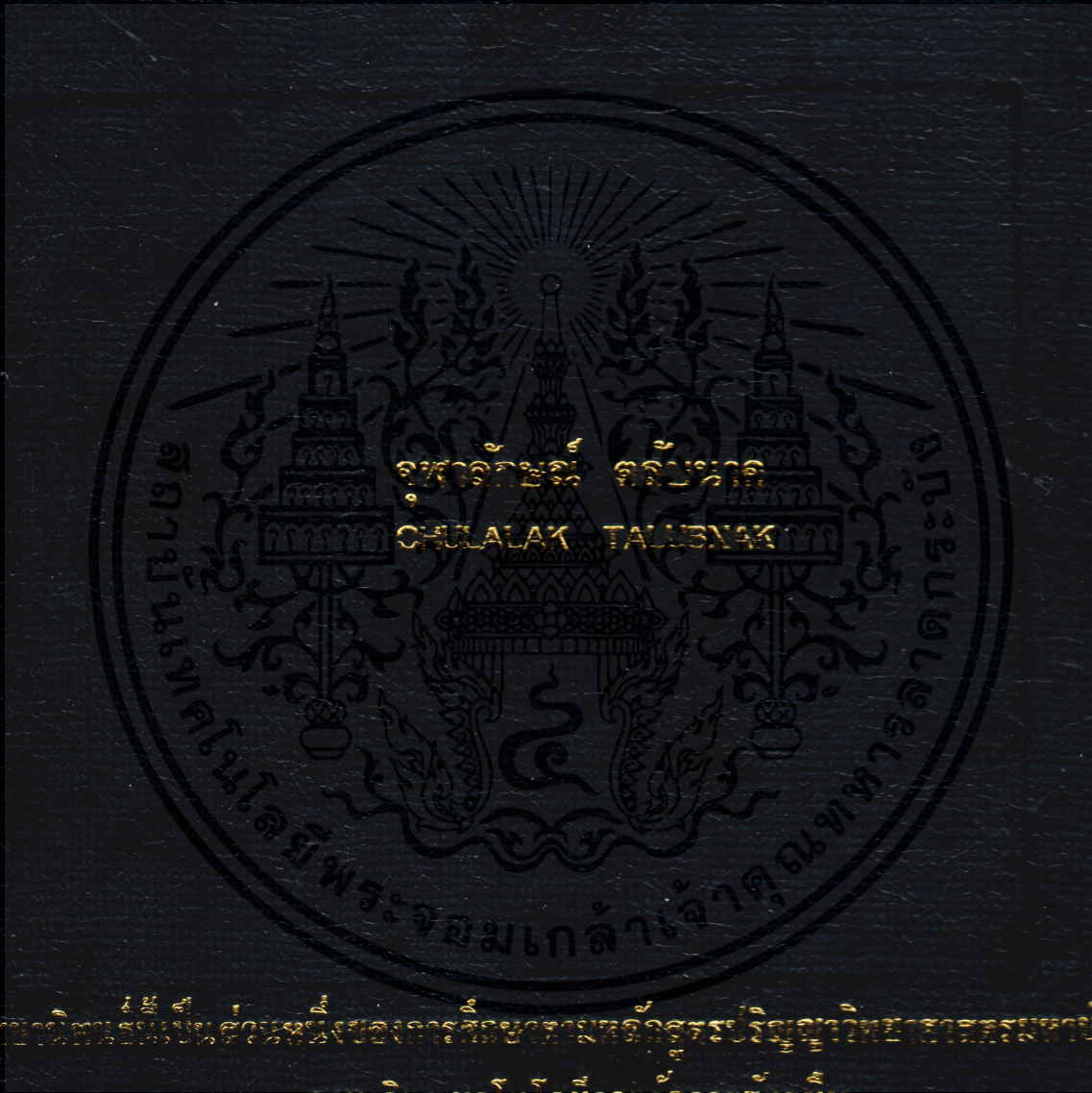


การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราและการควบคุมโรคแอนแทรกโนส
โดยชีววิธีของวานิลลา

STUDY ON FUNGAL DIVERSITY AND BIOLOGICAL CONTROL OF
ANTHRACNOSE IN VANILLA



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2553

KMITL-2010-AG-M-061-042

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราและการควบคุมโรคแอนแทรกโนส
โดยชีววิธีของวานิลลา

STUDY ON FUNGAL DIVERSITY AND BIOLOGICAL CONTROL OF
ANTHRACNOSE IN VANILLA



1110307

จุฬาลักษณ์ ตลับนาค

CHULALAK TALUBNAK

เลขหมู่.....110307
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....- 1 ๗๑. 2553

b.....
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้คณะเทคโนโลยีการเกษตร อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ครอบงำหรือมีการนำไปใช้

พ.ศ.2553

KMITL-2010-AG-M-061-042

**STUDY ON FUNGAL DIVERSITY AND BIOLOGICAL CONTROL OF
ANTHRACNOSE IN VANILLA**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN PLANT PEST MANAGEMENT TECHNOLOGY
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY**

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2010

KMITL-2010-AG-M-061-042



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ลือท้าวเป็นให้อัฒโพรบป้อนหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2010

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หลากหลายของเชื้อราของวานิลลา พบเชื้อรา endophyte 301 ไอโซเลท เชื้อรา epiphyte 175 ไอโซเลท และ เชื้อรา saprophyte 43 ไอโซเลท อย่างไรก็ตาม เชื้อราส่วนใหญ่ที่พบบ่งชี้ว่าจะอยู่ในกลุ่ม Deuteromycotina และ Ascomycotina ในการทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยเคมีกับวานิลลาทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่าการใช้ปุ๋ยเคมีทั้ง 2 ชนิด ให้ผลการทดสอบที่ดีแตกต่างกันในวานิลลาที่ถูกทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ และยิ่งไปกว่านั้นพบว่า ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 มีผลการเจริญเติบโตดีกว่าในเรื่องของจำนวนใบ ความยาวของเถา และ จำนวนตาที่แตกใหม่ เปรียบเทียบกับ สูตร 8-24-24



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Study on Fungal Diversity and Biological Control of Anthracnose in Vanilla
Student	Miss Chulalak Talubnak
Student ID.	49065501
Degree	Master of Science
Program	Plant Pest Management Technology
Year	2010
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Kasem Soyong

ABSTRACT

Anthracnose disease survey on five varieties of vanilla namely, *Vanilla albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* and *V. aphylla* was conducted at Suan Prathum's nursery. The disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* was found in all varieties of vanilla, except *V. aphylla* and the symptoms occurred on leaves and stem. Twenty-eight isolates of *C. gloeosporioides* were obtained and proved for their pathogenicity. The isolates VA8, VI1, VP8 and VS3 gave the highest virulence on disease incidence of *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia* and *V. siamensis*, respectively. Antagonistic effects of *Chaetomium elatum* and *Emericella nidulans* were tested against mycelial growth and sporulation of *C. gloeosporioides* isolate VA8, VI1, VP8 and VS3 using bi-culture test and crude extract test. Bi-culture test showed that only *Ch. elatum* could significantly inhibit the sporulation of *C. gloeosporioides*. Regarding the crude extract test, *Ch. elatum* and *E. nidulans* were extracted with hexane, ethyl acetate and methanol solvents and the tested concentrations of crude extract at 0, 10, 50, 100, 500 and 1,000 µg/ml. The result showed that crude extract from both tested antagonists which were extracted with the 3 solvents at 1,000 µg/ml gave about 80-90% inhibition effect on sporulation of any tested isolates. Regard to pot experiment, mixed-crude extracts from 3 solvents and spore suspension mixed with emulsifier plus oil (oil formulation) of each antagonist were evaluated for controlling the anthracnose disease caused by 4 above-mentioned isolates of *C. gloeosporioides* on 4 varieties of vanilla. It showed that mixed-crude extracts and spore suspension in oil formulation from both antagonists could significantly reduce anthracnose diseases of all tested

isolates. The fungal diversity of vanilla, 301 isolates of endophytic fungi, 175 isolates of epiphytic fungi and 43 isolates of saprophytic fungi were found. Moreover, Deuteromycotina and Ascomycotina were the most frequently detected. Based on the chemical fertilizer effect on 5 varieties of vanilla, the application of two tested-chemical fertilizers showed significantly better result on any tested vanilla compared to that of control. Furthermore, 15-15-15 chemical fertilizer gave better crop growth in terms of leaf number, stem length, and new bud number compared to 8-24-24 formulation.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.เกษม สร้อยทอง เป็นผู้ให้โอกาสทั้งในด้านการศึกษา เกี่ยวเชิญอบรมสั่งสอน ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า และให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นในการทำวิจัย ให้อุเคราะห์ทุนช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้ และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยวัฒน์ โคนนินต์ รองศาสตราจารย์ ดร.ณิมนันต์ เจริญอักษร รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรา สุนย์วีระ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรหมมาศ คุณากาญจน์ กรรมการวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

ขอขอบพระคุณ คุณ ทศนารถ กระจ่างวุฒิ และ เจ้าหน้าที่ประจำพระตำหนักสวนปทุมทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำการวิจัย และให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำในเรื่องต่างๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่กัญชลิลา รัตนเชิดฉาย พี่ชัชชัยพร เจริญพร พี่สายทอง แก้วฉาย พี่ชนินันท์ พรสุริยา พี่ณทชา สีหะนันท์ พี่ธนภักษ์ อินชอด และสมาชิกห้องปฏิบัติการตึกเห็ดราวิทยาทุกท่าน ที่คอยให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือด้านต่างๆ และเป็นกำลังใจในการทำวิจัย ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณธนวุฒิ ดันติโสภารักษ์ ที่ช่วยตรวจทาน แก้ไขข้อผิดพลาด และให้กำลังใจเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ซึ่งเป็นแรงผลักดัน และกำลังใจที่สำคัญ ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนในทุกๆ ด้าน ส่งผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

จุฬาลักษณ์ ตลับนาค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	IX
สารบัญภาพ	XII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลลา.....	4
2.2 สายพันธุ์ของวานิลลา	6
2.3 ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลลา	7
2.4 โรคที่สำคัญของวานิลลา	10
2.5 การทดสอบปุ๋ยเคมี	11
2.6 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี	13
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	17
3.1 การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลลาแต่ละสายพันธุ์.....	17
3.2 การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลลา แต่ละสายพันธุ์.....	17
3.3 การศึกษาเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของวานิลลาและทดสอบ ความสามารถในการเกิดโรค	18
3.4 การทดสอบการตอบสนองของวานิลลาที่มีต่อปุ๋ยเคมี.....	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เฉพาะในการศึกษาเท่านั้น มิได้อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ ใช้นาน การค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (Microbial antagonists) ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพกระถางทดลองของวานิลาสายพันธุ์ที่ทดลองปลูกเชิงการค้า.....	20
3.5.1 ศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน โดยวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วม (Bi-culture antagonistic tests).....	20
3.5.2 การทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบ (Crude extract tests)	21
3.5.3 การทดสอบควบคุมโรคแอนแทรกโนสในกระถางทดลอง.....	23
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	25
4.1 การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลาแต่ละสายพันธุ์.....	25
4.2 การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลาแต่ละสายพันธุ์.....	31
4.3 การศึกษาเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสของวานิลาและทดสอบความสามารถในการเกิดโรค.....	54
4.4 การทดสอบการตอบสนองของวานิลาที่มีต่อปุ๋ยเคมี.....	66
4.5 การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (Microbial antagonists) ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพกระถางทดลองของวานิลาสายพันธุ์ที่ทดลองปลูกเชิงการค้า	70
4.5.1 ศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน โดยวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วม (Bi-culture antagonistic tests).....	70
4.5.2 การทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบ (Crude extract tests).....	80
4.5.3 การทดสอบควบคุมโรคแอนแทรกโนสในกระถางทดลอง	107
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	116
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	122

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการใช้งานเพื่อการศึกษาดูเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม	124
ภาคผนวก.....	135
ภาคผนวก ก. ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่.....	136
ประวัติผู้เขียน	160



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 การเปรียบเทียบลักษณะของวานิลา 5 สายพันธุ์.....	25
4.2 เชื้อรา endophyte ที่แยกได้จากวานิลา 5 สายพันธุ์.....	33
4.3 เชื้อรา epiphyte ที่แยกได้จากวานิลา 5 สายพันธุ์.....	34
4.4 เชื้อรา saprophyte ที่แยกได้จากวานิลา 5 สายพันธุ์.....	36
4.5 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลในการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลทต่างๆ โดยวิธี detached leaf เป็นเวลา 15 วัน	64
4.6 อิทธิพลของชนิดปุ๋ยเคมีที่มีต่อสายพันธุ์วานิลา.....	67
4.7 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน.....	74
4.8 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน	74
4.9 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla plicifera</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน.....	75
4.10 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla plicifera</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน	75
4.11 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน.....	76
4.12 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน	76

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.13 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน	77
4.14 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน	77
4.15 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Chaetomium elatum</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i> ที่อายุ 5 วัน	86
4.16 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Chaetomium elatum</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla ptilifera</i> ที่อายุ 5 วัน	87
4.17 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Chaetomium elatum</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> ที่อายุ 5 วัน	88
4.18 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Chaetomium elatum</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> ที่อายุ 5 วัน	89
4.19 ค่า ED ₅₀ ของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Chaetomium elatum</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	90
4.20 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Emericella nidulans</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i> ที่อายุ 5 วัน	99
4.21 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Emericella nidulans</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla ptilifera</i> ที่อายุ 5 วัน	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการอ้างอิงเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปใช้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.22 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Emericella nidulans</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> ที่อายุ 5 วัน.....	101
4.23 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Emericella nidulans</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> ที่อายุ 5 วัน.....	102
4.24 ค่า ED ₅₀ ของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Emericella nidulans</i> ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	103
4.25 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i> ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8 ระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง	110
4.26 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla piliifera</i> ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VI1 ระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง	111
4.27 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8 ระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง	112
4.28 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3 ระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง	113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะของต้นวานิลลา.....	4
2.2 แสดงส่วนประกอบภายในของดอกวานิลลา.....	5
3.1 แผนผังแสดงการสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใย Antagonistic fungi.....	22
3.2 แสดงภาพเครื่อง homogenizer และ เครื่องกวนผสมสารตัวอย่าง.....	24
4.1 ลักษณะของ <i>Vanilla albida</i>	29
4.2 ลักษณะของ <i>Vanilla pilifera</i>	29
4.3 ลักษณะของ <i>Vanilla planifolia</i>	30
4.4 ลักษณะของ <i>Vanilla siamensis</i>	30
4.5 ลักษณะของ <i>Vanilla aphylla</i>	31
4.6 การเกิดเชื้อรา endophyte จากใบวานิลลาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....	36
4.7 เชื้อรา endophyte <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (non setae) VANL1.....	37
4.8 เชื้อรา endophyte <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (setae) VINS5.....	37
4.9 เชื้อรา endophyte <i>Nigrospora sphaerica</i> VANS21.....	38
4.10 เชื้อรา endophyte <i>Phyllosticta ilicicola</i> VLNS31.....	38
4.11 เชื้อรา endophyte <i>Curvularia lunata</i> VPNR5.....	39
4.12 เชื้อรา endophyte <i>Gongonella</i> spp. VSNR4.....	39
4.13 เชื้อรา epiphyte <i>Aspergillus niger</i> VAEL2.....	40
4.14 เชื้อรา epiphyte <i>Penicillium atrovenerum</i> VAEL5.....	40
4.15 เชื้อรา epiphyte <i>Trichoderma harzianum</i> VIEL3.....	41
4.16 เชื้อรา epiphyte <i>Penicillium frequentans</i> VIES10.....	41
4.17 เชื้อรา epiphyte <i>Papulaspora immerse</i> VPER9.....	42
4.18 เชื้อรา epiphyte <i>Myrothecium roridum</i> VPES15.....	42
4.19 เชื้อรา epiphyte <i>Pithomyces</i> spp. VLER17.....	43
4.20 เชื้อรา epiphyte <i>Aspergillus fumigatus</i> VPES18.....	43
4.21 เชื้อรา epiphyte <i>Apiospora montagnei</i> VSEL12.....	44
4.22 เชื้อรา saprophyte <i>Syncephalastrum racemosum</i> VASL3.....	44
4.23 เชื้อรา epiphyte <i>Aspergillus terreus</i> VSES20.....	45
4.24 เชื้อรา saprophyte <i>Memnoniella echinata</i> VASL6.....	46

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.25 เชื้อรา saprophyte <i>Verticillium dahliae</i> VASS1	46
4.26 เชื้อรา saprophyte <i>Gliocladium virens</i> VISL1	47
4.27 เชื้อรา saprophyte <i>Penicillium purpurogenum</i> VSSL6	47
4.28 เชื้อรา saprophyte <i>Alternaria alternata</i> VLSS1	48
4.29 เชื้อรา endophyte <i>Xylaria</i> spp. VANR8	48
4.30 เชื้อรา endophyte <i>Chaetomium cocchoioides</i> VINR4	49
4.31 เชื้อรา endophyte <i>Leptosphaeria</i> spp. VINR8	49
4.32 เชื้อรา endophyte <i>Guignardia</i> spp. VLNS32	50
4.33 เชื้อรา endophyte <i>Chaetomium malaysiense</i> VPNL30	51
4.34 เชื้อรา epiphyte <i>Emericella nidulans</i> VAEL6	52
4.35 เชื้อรา epiphyte <i>Phoma capitulum</i> VAES5	52
4.36 เชื้อรา epiphyte <i>Phoma tracheiphila</i> VIEL10	53
4.37 เชื้อรา epiphyte <i>Chaetomella raphigera</i> VIER21	53
4.38 เชื้อรา epiphyte <i>Phoma nebulosa</i> VSEL23	54
4.39 เชื้อรา epiphyte <i>Pestalotiopsis guepinii</i> VSES10	54
4.40 ลักษณะอาการแอนแทรคโนสของ <i>Vanilla albida</i> ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8	61
4.41 ลักษณะอาการแอนแทรคโนสของ <i>Vanilla ptilifera</i> ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VI1	61
4.42 ลักษณะอาการแอนแทรคโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8	62
4.43 ลักษณะอาการแอนแทรคโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3	62
4.44 การเกิดโรคบนใบ <i>Vanilla albida</i> และ <i>Vanilla ptilifera</i>	65
4.45 การเกิดโรคบนใบ <i>Vanilla planifolia</i> และ <i>Vanilla siamensis</i>	65
4.46 อิทธิพลการตอบสนองของญี่ปุ่นเคมีต่อ <i>Vanilla albida</i> หลังจากการใส่ญี่ปุ่นเคมีเป็นเวลา 3 เดือน	68

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.47 อิทธิพลการตอบสนองของรุ่มเคมีต่อ <i>Vanilla ptilifera</i> หลังจากการใส่รุ่มเคมีเป็นเวลา 3 เดือน	68
4.48 อิทธิพลการตอบสนองของรุ่มเคมีต่อ <i>Vanilla planifolia</i> หลังจากการใส่รุ่มเคมีเป็นเวลา 3 เดือน	69
4.49 อิทธิพลการตอบสนองของรุ่มเคมีต่อ <i>Vanilla siamensis</i> หลังจากการใส่รุ่มเคมีเป็นเวลา 3 เดือน	69
4.50 อิทธิพลการตอบสนองของรุ่มเคมีต่อ <i>Vanilla aphylla</i> หลังจากการใส่รุ่มเคมีเป็นเวลา 3 เดือน	70
4.51 เชื้อรา <i>Chaetomium elatum</i>	71
4.52 เชื้อรา <i>Emericella nidulans</i>	71
4.53 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมที่อายุ 10 วัน.....	78
4.54 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla ptilifera</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมที่อายุ 10 วัน	78
4.55 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมที่อายุ 10 วัน	79
4.56 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมที่อายุ 10 วัน.....	79
4.57 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน <i>Chaetomium elatum</i> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	90
4.58 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla ptilifera</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน <i>Chaetomium elatum</i> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	91

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.59 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน <i>Chaetomium elatum</i> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	92
4.60 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน <i>Chaetomium elatum</i> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	93
4.61 อิทธิพลของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Chaetomium elatum</i> ที่มีผลต่อสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml	94
4.62 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน <i>Emericella nidulans</i> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	103
4.63 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla ptilifera</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน <i>Emericella nidulans</i> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	104
4.64 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน <i>Emericella nidulans</i> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	105
4.65 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน <i>Emericella nidulans</i> ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	106
4.66 อิทธิพลของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Emericella nidulans</i> ที่มีผลต่อสปอร์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml.....	107
4.67 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla albida</i>	114
4.68 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla ptilifera</i>	114
4.69 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla planifolia</i>	115
4.70 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ <i>Vanilla siamensis</i>	115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาดูเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

วานิลลา (Vanilla) เป็นพืชไม้เลื้อยจัดอยู่ในตระกูลกล้วยไม้ (Orchidaceae) มีถิ่นกำเนิดทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเม็กซิโก กัวเตมาลา และบางส่วนของประเทศแถบอเมริกากลาง ในปัจจุบันมีการปลูกเพื่อการค้าในหลายประเทศ เช่น อินโดนีเซีย หมู่เกาะริยูเนียน คาฮิติ และ ตองกา ซึ่งประเทศมาดากัสการ์เป็นประเทศที่มีปริมาณการผลิตมากที่สุดในโลก (Kramer. 1989 ; Waliszewski *et al.* 2006) วานิลลามีคุณสมบัติเป็นพืชเครื่องเทศและเป็นกล้วยไม้ชนิดเดียวที่สามารถนำฝักมาใช้ประโยชน์ได้ โดยการนำฝักมาหมักและบ่มให้เกิดกลิ่นหอม และมีรสชาติแล้วจึงนำฝักไปสกัดให้ได้สาร ซึ่งสารที่สกัดได้จะมีกลิ่นหอมที่เกิดจากสารองค์ประกอบต่างๆ ในระหว่างการหมักและบ่มฝักวานิลลา ซึ่งมีสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นมากกว่า 250 ชนิด โดยสารวานิลลิน (Vanillin : 4-hydroxy-3-methoxy-benzaldehyde) เป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นที่สำคัญที่สุดของวานิลลา (ซารทิกซ์ เพชรบูรณิน. 2549 ; Podstolski *et al.* 2002) ซึ่งกลิ่นของวานิลลาในแต่ละแหล่งผลิตจะแตกต่างกันออกไป เนื่องจากสภาพภูมิอากาศ ดิน การผสมเกสร การเก็บเกี่ยว และวิธีการหมักที่แตกต่างกันด้วย (วราวุธ ชูธรรมรัช. 2536) โดยสารวานิลลินจะถูกนำไปปรุงแต่งกลิ่นและรสอาหาร เช่น ไอศกรีม ขนมหวานต่างๆ ซ็อกโกแลต เบเกอรี่ เครื่องดื่ม เป็นต้น นอกจากนั้นยังนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยา และเครื่องสำอางค์บางชนิด (Bythrow. 2005 ; Waliszewski *et al.* 2006) จากสถิติที่รายงานไว้ใน International Trade Center (ITC) ของการนำเข้าสารวานิลลินในประเทศไทย พบว่ามีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้นทุกปี ซึ่งในปี 2006 พบว่ามีการนำเข้าสารวานิลลิน มีมูลค่า 1,055,000 ดอลลาร์สหรัฐอเมริกา (<http://www.Trademap.net>) เนื่องจากการปลูกวานิลลาภายในประเทศยังมีปริมาณน้อย และยังไม่แพร่หลายเหมือนพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น จึงควรส่งเสริมขยายการปลูกให้มากขึ้น และเพียงพอกับความต้องการภายในประเทศ ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าวิจัยถึงเทคนิคและวิธีการปลูกวานิลลาในแหล่งต่างๆ ทางภาคเหนือ ภาคใต้ ภาคตะวันออกของประเทศ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนห้างฉัตร จังหวัดลำปาง ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี เพื่อนำมาทดสอบให้ได้ผลผลิตสูงสุด ซึ่งจะช่วยลดการนำเข้าของฝักวานิลลาและสารวานิลลิน โดยวานิลลาที่ปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันมีอยู่ 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์แพลนนิโฟเลีย (*Vanilla planifolia* Andrews) พันธุ์ปอมโปนา (*V. pompona* Schiede) และ พันธุ์คาฮิตเทนซิส (*V. tahitensis* T.W. Moore) แต่สายพันธุ์ที่นิยมปลูกกันเป็นส่วนมาก คือ พันธุ์แพลนนิโฟเลีย เพราะให้ผลผลิตสูง คุณภาพของฝักดีและกลิ่นของวานิลลาที่หอม (วราวุธ ชูธรรมรัช. 2536 ; Divakaran *et al.* 2006)

การปลูกวานิลลามักจะพบปัญหาจากการเข้าทำลายของโรค โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) (Ratanacherdchai *et al.* 2004 ; Divakaran *et al.* 2008) มีรายงานว่าโรคนี้อาจสร้างความเสียหายรุนแรงในแปลงปลูกวานิลลา โดยเข้าทำลายลำต้น ใบ ฟัก และ ราก บริเวณโคนต้น ทำให้ต้นเหี่ยว โรคนี้อาจระบาดในช่วงฤดูฝน โดยเฉพาะในแปลงปลูกที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีสภาพร่มเงามากเกินไป (วราวุธ ชูธรรมรัช. 2536) ได้มีรายงานว่าที่ประเทศอินเดียพบการระบาดของโรคแอนแทรคโนสในแปลงปลูกวานิลลาด้วย (Sasikumar *et al.* 1992) ในการป้องกันกำจัดโรคโดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีกำจัด เช่น เบน โนมิล (Benomyl) (Peres *et al.* 2004) ซึ่งการใช้สารเคมี ในปริมาณมากมักก่อให้เกิดการสะสมสารพิษในสิ่งแวดล้อม จนอาจจะอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต (แสงมณี ชิงดวง. 2539) ดังนั้น ในการป้องกันกำจัดโรคพืชจึงหาวิธีการใช้สารเคมีให้น้อยที่สุด พบว่าในปัจจุบันมีนักวิจัยได้ศึกษา ทดลองนำเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา แอคติโนมัยซิส (Actinomycetes) มาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชต่างๆ เช่น การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* ควบคุมโรคแอนแทรคโนส และ โรคลำต้นเน่า (Stem-end rot) ในมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Botryosphaeria* spp. (Korsten and Govender. 2006) การใช้แอคติโนมัยซิสต่อต้านเชื้อรา *Phytophthora fragariae* var. *rubi* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากเน่าของต้นราสเบอร์รี่ (Raspberry root rot) (Valois *et al.* 1996) และ การใช้เชื้อราในการควบคุมโรคพืช เช่น ใช้เชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *C. globosum* ต่อต้านเชื้อรา *Thielaviopsis paradoxa* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคตาเน่า (Bud rot) ของปาล์มแฮมเปญ (Hyophorbe lagenicaulis (L.H. Bailey) H.E. Moore) (Soytong *et al.* 2005) โรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุน (วิเชียร ตีทองและคณะ, 2543) และมีรายงานว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในพืชหลายชนิด เช่น ส้มเขียวหวาน ปาล์ม มะม่วง และ องุ่น (สุมิตรา น้อยเอี่ยม. 2540 ; ธีรัตน์ สมารักษ์ และ เกษม สร้อยทอง. 2545 ; วิไลรัตน์ ศรีนันท และ เกษม สร้อยทอง. 2545 ; Usuwat *et al.* 1999) เชื้อรา *Emericella nidulans* strain EN ควบคุมโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sibounnavong *et al.* 2008 ; 2010) นอกจากนี้เชื้อรา endophyte ในที่ได้จากพืช เช่น *Cryptocarya mandiocana* Nees (วงศ์ไม้อบเชย) (Inácio *et al.* 2006) *Garcinia* species (ส้มแขก) (Phongpaichit *et al.* 2006) *Theobroma cacao* (โกโก้) (Mejía *et al.* 2008) *Ginkgo biloba* (แปะก๊วย) (Qin *et al.* 2009) นำมาควบคุมโรคพืชได้ด้วย

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยการพัฒนาวานิลลาสายพันธุ์ป่า หัวหน้าโครงการคือ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ศึกษาถึงการปรับปรุง การผสมพันธุ์ของวานิลลาทั้งสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยและสายพันธุ์ที่นำเข้ามาทดลองปลูก ศึกษาเพื่อให้ได้ผลผลิตของฝักวานิลลาและสารวานิลลินมากที่สุด เพื่อลดการนำเข้าของสารวานิลลินและฝักวานิลลาที่ในแต่ละปีได้นำเข้ามาจำนวนมาก ซึ่งเป็นมูลค่าหลายล้านบาท ซึ่งปัญหาวานิลลาสายพันธุ์ป่าในประเทศไทยรวมถึงสายพันธุ์ที่นำเข้ามาทดลองปลูก มีการศึกษาแนวทางการควบคุมโดยไม่ใช้สารเคมี

ป้องกันกำจัดโรคพืช โดยทำการควบคุมโดยชีววิธี ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราต่อต้าน ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของวานิลลา และควรจะมีการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ (Biodiversity) ของเชื้อราที่มีความสัมพันธ์กับวานิลลาแต่ละสายพันธุ์ เพื่อประโยชน์ในการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์วานิลลาต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลลาแต่ละสายพันธุ์
- 1.2.2 เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลลาแต่ละสายพันธุ์
- 1.2.3 เพื่อศึกษาเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสของวานิลลาและทดสอบความสามารถในการเกิดโรค
- 1.2.4 เพื่อทดสอบการตอบสนองของวานิลลาที่มีต่อปุ๋ยเคมี
- 1.2.5 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (Microbial antagonists) ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในสภาพห้องปฏิบัติการ และในสภาพแปลงทดลองของวานิลลาสายพันธุ์ที่ทดลองปลูกเชิงการค้า

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลลา 5 สายพันธุ์ คือ *Vanilla albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* จากนั้นศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อรา endophyte, epiphyte และ saprophyte ที่แยกได้จากวานิลลาทั้ง 5 สายพันธุ์ และศึกษาลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนสในวานิลลาแต่ละชนิดและทำการคัดเลือก แยกเชื้อราสาเหตุ และทดสอบความสามารถในการเกิดโรค เพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่รุนแรง และทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราที่มีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสไอโซเลทที่มีความสามารถในการเกิดโรครุนแรงที่สุด และ ทดสอบการใช้สารสกัดยับยั้งจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสไอโซเลทที่มีความสามารถในการเกิดโรครุนแรงที่สุด และทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่เป็นชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของวานิลลาในสภาพกระถางทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

เรือนทดลองศึกษาระบาดวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า พระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามทำใจัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ระยะเวลาที่ทำการทดลองตั้งแต่เดือน สิงหาคม 2549 ถึงต้นเดือน สิงหาคม 2552

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลลา

วานิลลา (Vanilla) เป็นพืชจัดอยู่ในตระกูลกล้วยไม้ (Orchidaceae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vanilla fragrans* (Salisb) Ames. จัดเป็นพืชเครื่องเทศชนิดหนึ่งที่มีกลิ่นหอม วราวุธ ชูธรรมรัช (2536) อธิบายลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลลาโดยทั่วไป ดังนี้

ลำต้น มีลักษณะเป็นเถาเลื้อยทรงกระบอก สีเขียว อวบน้ำ ขนาดของลำต้นขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของเถา เมื่อโค้งงอจะหักง่าย มีเส้นผ่าศูนย์กลางเถาประมาณ 1-2 เซนติเมตร ปล้องมีความยาวประมาณ 5-15 เซนติเมตร เถาวานิลลาไม่มีปากใบจึงสามารถสังเคราะห์แสงได้ (ภาพที่ 2.1)

ใบ มีสีเขียว ลักษณะแบน อวบน้ำ ลักษณะใบแบบขอบขนานปลายแหลม (Oblong-elliptic) จนถึงแบบใบหอก (Lanceolate) ใบอาจยาวถึง 8-25 เซนติเมตร กว้าง 2-8 เซนติเมตร ปลายใบมีลักษณะแบบแหลม (Acute) ถึงเรียวแหลม (Acuminate) ใบออกสลับกัน (Alternate) มีก้านใบสั้น (ภาพที่ 2.1)

ราก วานิลลามีระบบราก 2 ประเภท คือ รากอากาศและรากบริเวณ โคน รากอากาศ มีสีเขียวถึงเขียวอ่อน เป็นรากเดี่ยวค่อนข้างยาว มีลักษณะอวบน้ำ จะเจริญออกจากเถาบริเวณข้อตรงข้ามกับใบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 มิลลิเมตร ทำหน้าที่ยึดเกาะ ส่วนรากบริเวณ โคนจะแตกออกมาเป็นแขนง ทำหน้าที่ดูดซับธาตุอาหารและน้ำในดิน (ภาพที่ 2.1)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะของต้นวานิลลา a) ลักษณะใบ ลำต้น ของวานิลลา b) รากบริเวณ โคน
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มาใช้นี้
c) รากอากาศ

ช่อดอก เกิดจากตาตรงชอกใบ เป็นช่อแต่ไม่มีก้านช่อดอกย่อยแตกออกไป แต่ละต้นมีประมาณ 4 ช่อ ช่อดอกยาวประมาณ 8 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.78 เซนติเมตร

ดอก แต่ละช่อดอกจะมีดอกประมาณ 5-20 ดอก ดอกวานิลลาไม่เป็นที่ดึงดูดของแมลง ดังนั้น จึงต้องช่วยผสมเกสร มิฉะนั้นจะไม่ติดฝัก เวลาที่พร้อมจะผสมคือ เวลา 8.00 - 10.00 นาฬิกา ภายหลังผสมติดแล้วรังไข่จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ลักษณะดอก ดอกวานิลามีสีเหลืองอมเขียว กลีบดอกหนา ดอกมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 มิลลิเมตร ก้านดอกสั้นหรือแทบไม่มีเลย มีรังไข่แบบ inferior ovary ยาวประมาณ 4-7 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร (ภาพที่ 2.2)

กลีบเลี้ยง มี 3 กลีบ รูปร่างยาวรีขนาด 4-7 x 10-15 เซนติเมตร กลีบดอกมี 3 กลีบ สองกลีบด้านบนของดอกมีลักษณะคล้ายกลีบเลี้ยง อีกกลีบหนึ่งเปลี่ยนรูปเป็นรูปปากแตร จะมีขนาดสั้นกว่ากลีบดอกอื่น ปลายของฝา (ปากแตร) แยกเป็น 3 ส่วน และขอบหยักไม่สม่ำเสมอ (ภาพที่ 2.2)

เกสรตัวผู้ มี 1 อัน ประกอบด้วย อับละอองเกสรตัวผู้ 2 อัน ส่วนของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียจะแยกออกจากกัน โดยมีเชื่อมบางๆ กันอยู่ เรียกชิ้นนี้ว่า โรสเทลลัม (Rostellum) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ละอองเกสรตัวผู้ไม่สามารถถ่ายละอองเกสรลงไปผสมกับเกสรตัวเมียได้

ผล เป็นผลแบบแคปซูล (Capsules) ปกติเรียกว่า ฝัก (Pod) มีลักษณะคล้ายทรงกระบอกแคบ โป่งตรงปลายฝัก มี 3 มุม ฝักยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร การเจริญเติบโตของฝักวานิลลาจะเป็นไปอย่างรวดเร็วภายใน 2 สัปดาห์หลังจากการผสมเกสรติด จากนั้นการเจริญเติบโตจะค่อนข้างคงที่ ภายในฝักจะมีเมล็ดอยู่จำนวนมาก เมื่อฝักแห้งจะมีกลิ่นหอม ฝักของวานิลลาบางสายพันธุ์เมื่อแก่จะแตกตามยาว (Septifragal) และบางสายพันธุ์เมื่อฝักแก่จะไม่แตก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใด

ภาพที่ 2.2 แสดงส่วนประกอบภายในของดอกวานิลลา อิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(แหล่งที่มา : <http://en.wikipedia.org/wiki/Vanilla>)

2.2 สายพันธุ์ของวานิลลา

วานิลลาที่ปลูกเป็นการค้าโดยทั่วไป มี 3 สายพันธุ์ คือ

1. วานิลลา แพลนนีโฟเลีย (*Vanilla planifolia* Andrews) เป็นสายพันธุ์ที่สำคัญที่สุดในการปลูกเป็นการค้าและเป็นแหล่งผลิตสารวานิลลินที่สำคัญ ปลูกแถบทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเม็กซิโก เวสต์อินเดียน กัวเตมาลา เอลซัลวาดอร์ เวเนซุเอล่า ซูรินัม เปรู โบลิเวีย และ ปลูกทั่วไปในแถบเขตร้อน วานิลลาสายพันธุ์นี้มีลักษณะใบยาว อวบน้ำ สีเขียว ใบออกตรงกันข้ามกับราก ก้านใบสั้น ใบมีลักษณะแบบขอบขนานปลายแหลม (Oblong-elliptic) จนถึง narrow lanceolate ปลายใบแบบ acute จนถึง acuminate ใบยาวประมาณ 9-23 เซนติเมตร กว้างประมาณ 2-8 เซนติเมตร ช่อดอกอาจมีมากกว่า 20 ดอก ดอกสีเขียวออกเหลือง มีกลีบเลี้ยง 3 กลีบ กลีบดอก 3 กลีบ ตรงกลาง คือ เสาเกสร (Column) มีทั้งเกสรตัวผู้ (Stamen) และ เกสรตัวเมีย (Pistil) 1 กลีบ จะเปลี่ยนและขยายเป็น ปาก (Lip) คล้ายทรมเปิดเกือบติดกับยอดของเสากะสร (Column) ซึ่งจะมียู่ 3 กลีบ (Lobed) มีลักษณะแบนยาวประมาณ 4-8 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5-3 เซนติเมตร (Ames and Correll. 1985)

2. วานิลลา ปอมโปนา (*Vanilla pompona* Schiede) ปลูกกันมากในแถบอเมริกากลาง อเมริกาใต้ ตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเม็กซิโก และทางเหนือของอเมริกาใต้ *V. pompona* ต้องการความชื้นน้อยกว่า *V. planifolia* และต้านทานต่อโรครากเน่า (*Fusarium batatalis* var. *vanillae* Tuckes) *V. pompona* จะออกดอกเมื่อมีอายุ 1 หรือ 2 ปี หลังจากปลูก ลักษณะของ *V. pompona* โดยทั่วไป จะคล้ายกับ *V. planifolia* ต่างกันตรงที่ใบจะมีขนาดใหญ่กว่ายาวประมาณ 15-18 เซนติเมตร กว้างประมาณ 4-11 เซนติเมตร ดอกจะมีสีเขียวออกเหลือง ฝักมีลักษณะสามเหลี่ยมขนาดยาวประมาณ 15-17.8 เซนติเมตร กว้างประมาณ 2.5-3.3 เซนติเมตร เวลาฝักแก่มักไม่ค่อยแตกแต่คุณภาพของฝักจะต่ำกว่า *V. planifolia* จึงทำให้มีราคาต่ำกว่าด้วย (Ames and Correll. 1985)

3. วานิลลา ตายีเตนซิส (*Vanilla tahitensis* J.W. Moore) มีการเพาะปลูกในแถบหมู่เกาะแปซิฟิกตอนใต้ ลักษณะของ *V. tahitensis* โดยทั่วไปจะคล้ายคลึงกับ *V. planifolia* มาก ต่างกันตรงที่ลำต้นจะเรียวกว่า ใบแคบกว่า และ ส่วนของ perianth ยาวกว่า และ ปาก (Lip) สั้นกว่า กลีบเลี้ยง (Sepal) ฝักสั้นกว่าและมีสีปนแดงน้ำตาลยาวประมาณ 12-14 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.9 เซนติเมตร ตรงกลางฝักจะกว้างและค่อยๆ แคบลงตรงปลาย (วราวุธ ชูธรรมรัช. 2536 ; Besse et al. 2004)

วานิลลาสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย มี 4 สายพันธุ์ ได้แก่

1. วานิลลา อัลบิคา (*Vanilla albida* Blume) หรือ เอาะลบ หรือ กะเอาะลอน หรือ งคขาว ลำต้นสีเขียวเข้ม รากออกตรงข้อ ใบมีหลายขนาด ลักษณะใบแคบ กว้างประมาณ 3.5-5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 12-14 เซนติเมตร ช่อดอก (Inflorescences) ยาวประมาณ 3 เซนติเมตร มีดอกประมาณ 6-12 ดอก sepal และ petal ยาวประมาณ 4 เซนติเมตร สีเหลืองออกเขียวสว่าง lip ยาวประมาณ 4.75

เซนติเมตร ส่วนมากจะมีสีเขียว บางครั้งก็สีม่วงเข้มบริเวณใกล้ฐาน ฝักยาวประมาณ 8 เซนติเมตร พบปลูกในประเทศไทย สุมาตรา จาवा และ บอร์เนียว (เต็ม สมิตินันท์. 2544 ; Comber. 1990)

2. วานิลลา พิลิเฟอรา (*Vanilla ptilifera* Holttum) หรือ งด หรือ สามร้อยต่อใหญ่ ลำต้นสีเขียว มีปล้องยาวประมาณ 7-10 เซนติเมตร รากออกที่ข้อ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 4-8 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10-16 เซนติเมตร ใบบางปลายแหลม ช่อดอกสั้น ก้านดอก (Pedicel) สีขาว รังไข่ (Ovary) สีเขียว กลีบเลี้ยงสีเขียวอ่อนๆ กลีบดอกสีครีมมีแถบสีเขียว ด้านหลังกลีบปาก (Lip) มีสีครีมและมีเส้นสีชมพูอ่อนๆ ด้านบนผิวหน้า กลีบดอกกว้างประมาณ 1.6 เซนติเมตร lip ยาวประมาณ 3 เซนติเมตร column ยาวประมาณ 1.8 เซนติเมตร มีสีขาว พบปลูกที่จังหวัดตรัง ประจวบคีรีขันธ์ บริเวณคาบสมุทรของประเทศไทย (เต็ม สมิตินันท์. 2544 ; Seidenfaden and Wood. 1992)

3. วานิลลา ไชแอมเมนซิส (*Vanilla siamensis* Rolfe ex Downie) หรือ ทองผา หรือ พลุช้าง ลำต้นสีเขียวเข้ม ผิวต้นเกลี้ยงกลม มีปล้องยาว 20-50 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางเถาประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร ใบรูปรี มีขนาดใหญ่ แบนเรียบ หนา อวบน้ำ ปลายแหลมหรือปลายมน สีเขียวเข้ม กว้างประมาณ 6-12 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10-30 เซนติเมตร ดอกออกตามข้อเป็นช่อสั้นๆ ขนาดดอก 4-5 เซนติเมตร กลีบค่อนข้างอวบน้ำและแผ่กาง ฤดูออกดอกช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายน แหล่งที่พบ แถวภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออก ของประเทศไทย (อบฉันทน์ ไทยทอง. 2543 ; เต็ม สมิตินันท์. 2544)

4. วานิลลา เอพิลลา (*Vanilla aphylla* Blume) หรือ คคนกูด หรือ เครื่องเขียว หรือ เถาเขียว ลำต้นกลม แบน สีเขียว ผิวเรียบเป็นร่องยาว 2 ข้าง ตรงข้ามกัน เถาฉ่ำน้ำ มีกลิ่นฉุน มีรากยึดเกาะตามข้อปล้อง ใบเดี่ยวเรียงสลับ ลดรูปเป็นแผ่นสามเหลี่ยม สีเขียว ช่อดอกแบบกระจจะ ออกเป็นกระจุกสั้นๆ ที่ซอกใบ 2-3 ดอก ก้านช่อดอกสั้นประมาณ 2-3 มิลลิเมตร แต่ละดอกมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีเหลืองออกเขียวอ่อน lip มีสีเขียวหม่น ตรงกลางมีสีม่วง มีกลิ่นหอมอ่อนๆ จะหอมมากขึ้นในช่วงเย็น ฝักเป็นรูปทรงกระบอกเรียวยาว สีเขียวเข้ม ฉ่ำน้ำ แหล่งที่พบ ขึ้นในป่าดิบแล้งเกือบทุกภาคของประเทศไทย ระดับความสูงตั้งแต่ใกล้ระดับน้ำทะเลจนถึง 500 เมตร พบในประเทศ เวียดนาม ลาว (เต็ม สมิตินันท์. 2544 ; ปิยะ เฉลิมกลิ่น และคณะ. 2550)

2.3 ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลลา

เชื้อรา (Fungus) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เชื้อราประกอบด้วยเซลล์เดี่ยวจนถึงหลายเซลล์ ประกอบเป็นโครงสร้างมีลักษณะเป็นเส้นใย (Hyphae) แดกกิ่งก้านเป็นเส้นสาย (Mycelium) เจริญเติบโตเป็นโคโลนี (Colony) และมีส่วนขยายพันธุ์ เรียกว่า สปอร์ (Spore) ซึ่งแต่ละเซลล์จะมีผนังห่อหุ้มนิวเคลียส เรียกพวกนี้ว่า ยูคาริโอต

(Eukaryote) เชื้อราที่มีทั้งการสืบพันธุ์แบบใช้เพศและไม่ใช้เพศ เชื้อราไม่สามารถสร้างอาหารได้เอง เนื่องจากไม่มีคลอโรพลาสต์ เชื้อราได้รับอาหาร โดยการดูดซับสารละลายอินทรีย์ผ่านผนังเซลล์ของเส้นใยเพื่อการเจริญเติบโต (เกษม สร้อยทอง. 2551) เชื้อราสามารถพบได้ทุกแห่ง ทั้งในดิน ในน้ำ ในอากาศ และในสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น ในพืช (Verma and Kharwar. 2006) เป็นต้น

ในการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เจริญกับพืชอาจแบ่งเป็น 3 ลักษณะ คือ endophyte, epiphyte และ saprophyte

เชื้อรา endophyte คือ เชื้อราที่เจริญเติบโตอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชที่ไม่เป็นโรคและไม่ทำอันตรายหรือทำให้เนื้อเยื่อพืชเสียหาย นอกจากนี้ยังช่วยทำให้พืชแข็งแรง ปกป้องพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค (Lodge *et al.* 1996 ; Verma and Kharwar. 2006) เชื้อรา endophyte สามารถแยกได้จากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เมล็ด ใบ ลำต้น ก้านใบ และ ราก (Bayman *et al.* 1997 ; Lu *et al.* 2000) ซึ่ง Verma and Kharwar (2006) รายงานไว้ว่า เนื้อเยื่ออ่อน (Young tissue) จะเหมาะสมสำหรับการแยกเชื้อรา endophyte มากกว่าเนื้อเยื่อแก่ (Older tissue) โดยเก็บชิ้นส่วนพืชที่ต้องการนำมาแยกเชื้อรา ตัดเป็นชิ้นขนาดเล็ก เพื่อง่ายต่อการฆ่าเชื้อบนผิวพืช และง่ายต่อกระบวนการแยกเชื้อรา ดังเช่น รายงานของ Photita *et al.* (2001) ศึกษาเชื้อรา endophyte ที่แยกจากส่วนต่างๆ ของ กล้วยป่า (*Musa acuminata*) ที่อุทยานแห่งชาติคอกยสุเทพ ประเทศไทย ซึ่งพบเชื้อรา endophyte จากตัวอย่างที่อ่อนมากกว่าตัวอย่างแก่ ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน การหาเชื้อรา endophyte จากพืชชนิดต่างๆ ได้มีการศึกษากันอย่างต่อเนื่อง เลขา มาโนช และคณะ (2544) ได้พบเชื้อรา endophyte จากใบของกล้วยไม้ดิน เชื้อราที่พบ ได้แก่ *Colletotrichum* sp., *Nodulosporium* sp. และ *Xylariaceae* Fröhlich *et al.* (2000) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อรา endophyte กับปาล์ม ที่นำมาจาก 2 ประเทศ พบ Xylariaceous species เป็นส่วนใหญ่ Lodge *et al.* (1996) แยกเชื้อรา endophyte จากใบของ *Manilkara bidentata* เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ไม้พิกุล (Sapotaceae) Suryanarayanan *et al.* (2000) ได้ศึกษาเชื้อรา endophyte จากพืช *Cuscuta reflexa* (เหรี้อเขาค่า) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Convolvulaceae Tejesvi *et al.* (2005) ศึกษาถึงกลุ่มของเชื้อรา endophyte ที่แยกจากพืช *Terminalia arjuna* (สมอเทศ) โดยใช้ส่วนในของเปลือกไม้ (Inner bark) และ กิ่งไม้ (Twig)

Seena and Sridhar (2004) ได้ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา endophyte ของพืชจำพวกถั่วที่ขึ้นบริเวณเนินทรายชายฝั่งทะเล (Coastal sand dune legumes) คือ *Canavalia cathartica* และ *C. maritima* โดยแยกจากเนื้อเยื่อของพืช 5 ส่วน คือ coryledons, seed coats, roots, stems และ leaves และ แยกจากพืชในอายุที่ต่างกัน คือ ตอนที่เป็นเมล็ด ต้นกล้า และ ต้นแก่ Fisher *et al.* (1994) ได้แยกเชื้อรา endophyte จากใบและกิ่งของต้น *Quercus ilex* L. เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ไม้ก่อ (Fagaceae) จากประเทศอังกฤษ มาจอร์กา และ สวิสเซอร์แลนด์ และ แยกเชื้อรา endophyte จากใบ

เอกสารนี้เป็นของ *Leptospermum scoparium* (Johnston. 1998) อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ganley and Newcombe (2006) แยกเชื้อรา endophyte จากเมล็ดและใบของต้น *Pinus monticola* เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์สน และ Wang *et al.* (2007) ได้แยกเชื้อรา endophyte จากลำต้นของ *Gossypium* species ที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองของประเทศออสเตรเลีย และ ในพืชตระกูลถั่วด้วยไม้ เช่น *Lepanthes* ได้มีผู้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเชื้อรา endophyte จากรากและใบ (Bayman *et al.* 1997)

นอกจากนี้ยังมีผู้กล่าวว่า ต้นไม้ที่ปลูกอยู่ในป่าทั่วโลก เป็นแหล่งที่พบจุลินทรีย์ endophyte และ นอกจากนั้น endophyte เหล่านี้สามารถผลิตสาร bioactive metabolites ออกมาได้อีกด้วย ซึ่งสารเหล่านี้มีประโยชน์ทั้งกับพืชอาศัย (host) พืชที่เป็นโรค และมนุษย์ โดยนำสารเหล่านี้มาวิจัยในการควบคุมโรค (Schulz *et al.* 1999 ; Boontim and Lamyong. 1998 ; Strobel. 2003) มีงานวิจัยหลายเรื่องที่เกี่ยวข้องกับการนำสาร metabolites ที่เชื้อรา endophyte สร้างขึ้นนำมาควบคุมโรคพืช เช่น รายงานของ Istifadah *et al.* (2006) พบว่า สาร metabolites จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่เป็นเชื้อรา endophyte สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pyrenophora tritici-repentis* ในห้องปฏิบัติการได้

Lu *et al.* (2000) พบว่า เชื้อรา *Colletotrichum* sp. สามารถผลิตสาร metabolites มายับยั้งการเกิดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia cerealis*, *Helminthosporium sativum* และ *Phytophthora capsici*

Inácio *et al.* (2006) ก็พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เป็นเชื้อรา endophyte ซึ่งแยกได้จากต้น *Cryptocarya mandiocana* Nees สามารถผลิตสาร metabolites ที่ต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Cladosporium sphaerospermum* และ *Cladosporium cladosporioides* ได้

อย่างไรก็ตาม สาร metabolites ที่เชื้อรา endophyte สร้างขึ้น นอกจากจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้แล้ว ยังสามารถต่อต้านการเกิดโรคในมนุษย์ได้อีกด้วย เช่น โรคที่เกิดจาก *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (Rukachaisirikul *et al.* 2008) *Candida albicans* (Pongcharoen *et al.* 2008) โรค leukemia K562 และ colon cancer SW1116 cell lines (Jiao *et al.* 2006) และ ต่อต้าน tumor cell lines ได้หลายชนิด (Wang *et al.* 2006) นอกจากนี้ มีผู้พบเชื้อรา endophyte ที่นำไปใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชที่เข้าทำลายพืชชนิดนั้น เช่น เชื้อรา *Acremonium*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Clonostachys* และ *Paecilomyces* (Vega. 2008 ; Vega *et al.* 2008)

เชื้อรา epiphyte คือ เชื้อราที่เจริญอยู่บนผิวหน้าพืช มีความสำคัญกับพืช ซึ่งจะช่วยให้พืชแข็งแรงและปกป้องพืชจากเชื้อก่อโรค (Santamaria and Bayman. 2005) ดังเช่น รายงานของ Witting *et al.* (1997) ที่พบว่า เชื้อรา epiphyte *Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum purpurascens* และ *Gliocladium roseum* สามารถควบคุม *Monilinia fructicola* ที่เป็นสาเหตุโรค Brown rot blossom blight ใน sweet cherry และนอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ใช่เชื้อราที่เป็น epiphytic microorganisms สามารถควบคุมโรคพืชได้ ดังเช่นรายงานของ Capdeville *et al.* (2007) พบว่า ยีสต์

Cryptococcus magnus ที่พบบนผิวของมะละกอและใบมะละกอ สามารถควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในมะละกอได้ ที่ระดับความเข้มข้นที่ 10^7 - 10^8 cells/ml เชื้อรา saprophyte คือ เชื้อราที่พบทั่วไปในดิน ซากอินทรีย์วัตถุต่างๆ และที่สำคัญเป็นส่วนประกอบของ fungal pathway ของห่วงโซ่อาหารในดิน ซึ่งเชื้อรา saprophyte จะช่วยย่อยสลายอินทรีย์วัตถุที่เป็นแหล่งอาหารของเชื้อรา saprophyte และยังทำให้ระบบนิเวศน์ในธรรมชาติมีความสมดุล (Coleman *et al.* 1983 ; Hawksworth *et al.* 1995) จากรายงานของ Hyde *et al.* (2002) ได้ศึกษาเชื้อราที่เจริญอยู่บนหน่อของต้นไผ่ที่นำเปื้อนจากประเทศฮ่องกงและฟิลิปปินส์ พบว่า มีความหลากหลายของเชื้อรา saprophyte สูงมาก และนอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อรา saprophyte บางตัวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เช่น *Paecilomyces lilacinus* เชื้อรา saprophyte ที่พบว่า สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Septoria tritici* และ *Bipolaris sorokiniana* ได้ (Perello *et al.* 2002) และ เชื้อรา *Chaetomium* species ที่เป็นเชื้อรา saprophyte พบว่า สามารถควบคุมโรค spot blotch ที่เกิดจากเชื้อรา *Cochliobolus sativus* ในข้าวสาลี โรคใบจุดของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* โรค rice blast ในข้าว ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (Soytong and Quimio. 1989 ; Soytong. 1991 ; Aggarwal *et al.* 2004)

2.4 โรคที่สำคัญของวานิลลา

ในการปลูกวานิลลามักจะมีโรคเข้ามาทำลายทำให้เกิดความเสียหาย ซึ่งเกิดจากเชื้อราที่ทำให้เกิดโรค เช่น *Phytophthora meadii*, *Fusarium oxysporum*, *Calospora vanillae* เป็นสาเหตุของโรคลำต้นเน่า (Stem rot) และ เหี่ยว (Wilting) เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส เชื้อรา *Curvularia* spp. เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้ (Leaf blight) และเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. เป็นสาเหตุของโรค stem necrotic (Rattanacherdchai and Soyong. 2004 ; Divakaran *et al.* 2008 ; Soyong and Rattanacherdchai. 2008)

โรคเน่าดำ (Black rot) เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่ง แสงมณี ชิงดวง และคณะ (2536) รายงานว่าจากการทดลองปลูกวานิลลาของสถาบันวิจัยพืชสวนจังหวัดเชียงใหม่ ได้ประสบปัญหาการเกิดโรคของวานิลลา โดยจะระบาดรุนแรงมากขึ้นเมื่อมีความชื้นของอากาศสูง อาการเริ่มแรกคือ ใบหรือลำต้นเป็นสีเหลือง โดยเชื้อจะเข้าทำลายที่บริเวณรากอ่อน แล้วลุกลามขึ้นโคนต้นและจากลำต้นไปสู่ใบและยอด ส่วนที่ถูกทำลายจะเหลือง จากนั้นใบ ลำต้น ท่อน้ำและท่อน้ำอาหารจะถูกทำลาย เกิดอาการเน่าเป็นสีดำและแห้งตายไปในที่สุด ส่วนใบและยอดมีอาการเน่าและเป็นสีดำและเหี่ยวช่น สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อโรค *Phytophthora rot* เกิดจากเชื้อ *Phytophthora meadii* เชื้อจะเข้าทำลายทำให้เกิดอาการบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่เหนือดินและทำให้เกิดอาการรากเน่า Bhai and Thomas (2000) รายงาน

ว่า โรคนี้ทำให้เกิดอาการเน่าที่ฝัก ใบและลำต้นของวานิลลา ซึ่งเป็นรายงานครั้งแรกที่พบ โรคที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* spp. ในอินเดีย

โรคลำต้นเน่า (Stem rot) เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* ระยะแรกบริเวณรากจะเริ่มมีสีน้ำตาลและเริ่มตาย โดยเริ่มสังเกตเห็นบริเวณผิวดิน ต่อมารากก็จะตายและจะมีผลต่อการสร้างรากใหม่ ปลายยอดก็จะตาย ลำต้นและใบเริ่มเป็นสีเหลือง จนในที่สุดก็อาจถึงตายได้ (George. 1973) โรคลำต้นเน่านี้เป็นโรคที่สำคัญและมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางของพื้นที่ปลูกในประเทศอินโดนีเซีย ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจทุกปี โดยจะมีการแพร่ระบาดรุนแรงบริเวณ ซวา บาห์ลีและสุมาตราเหนือ (Tombe et al. 1991)

โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) เกิดจากเชื้อรา *Glomerella vanillae* (Zimm.) Petch & Ragun imperfect Stage of *Colletotrichum* sp. เข้าทำลายบริเวณลำต้นและใบ เป็นรอยปุ่มรูปไข่หรือวงรี อาการเริ่มแรกเห็นเป็นจุดดำน้ำก่อนแล้วจึงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและแผลเริ่มแห้ง หลังจากนั้นสีของแผลจะเริ่มเข้มขึ้นทำให้เถาเหี่ยวและฝักร่วงได้ (George. 1973) วราวุธ ชูธรรมรัช (2536) รายงานว่า โรคแอนแทรคโนสเป็นโรคที่ทำความเสียหายรุนแรงในแหล่งปลูกวานิลลา ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Calospora vanillae* Masee โดยจะเข้าทำลายลำต้น ใบ และ ราก ทำให้ลำต้นเหี่ยว ฝักจะร่วง และจะระบาดมากในสภาพแปลงปลูกที่มีความชื้นสูงมาก มีการระบายน้ำในดินไม่ดี มีสภาพร่มเงามากเกินไป Agrios (2005) กล่าวว่า โรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งจะทำความเสียหายให้กับพืชผล พืชประดับ เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะพืชที่อยู่ในเขตร้อน เช่น พืชตระกูลส้ม มะม่วง มะกอก อโวคาโด อ้อย หอมหัวใหญ่ รัญพืชต่างๆ พืชตระกูลแตง เป็นต้น

2.5 การทดสอบปุ๋ยเคมี

ปุ๋ย (Fertilizer) หมายถึง วัสดุหรือสารที่ใส่ลงไปในดิน เพื่อเพิ่มระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินหรือเพิ่มปริมาณของธาตุอาหารที่พืชต้องการหรือได้รับไม่เพียงพอในการเจริญเติบโต และเพื่อเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลผลิตด้วย (มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544)

ปุ๋ยเคมี (Chemical fertilizer) หมายถึง ปุ๋ยที่เกิดจากสารประกอบอนินทรีย์ต่างๆ หรือเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นจากกระบวนการทางเคมี ที่ให้ธาตุอาหารพืชในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที (มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544) ในปัจจุบัน ปุ๋ยเคมีนับว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญยิ่งในกระบวนการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้ผลิต ในการใช้ปุ๋ยเคมีในอัตราที่สูงติดต่อกันเป็นเวลานานๆ อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม มีสารตกค้างในดิน ทำให้โครงสร้างของดินเสื่อมลง ดินแน่นทึบ และเป็นกรดเพิ่มขึ้น สันติภาพ ปัญพรรค์ และคณะ (2532) กล่าวว่า ประโยชน์ของปุ๋ยเคมี คือ การเพิ่มธาตุอาหารให้แก่พืช ซึ่งผู้ผลิตสามารถหาซื้อได้ง่าย เพราะในปุ๋ยเคมีมีธาตุอาหารให้เลือกตามความต้องการในความเข้มข้นที่สูง อย่างไรก็ตาม ถ้าใช้

ปุ๋ยเคมีควบคุมกับการใช้สารอินทรีย์ชนิดต่างๆ จะเป็นการปรับปรุงดินได้อีกทาง และยังเพิ่มธาตุอาหารให้กับพืชได้อีกด้วย

วราวุธ ชูธรรมรัช (2536) รายงานว่า ในการปลูกวานิลลา เมื่อกวานิลลาเริ่มมีการเจริญเติบโต ควรจะมีการให้ปุ๋ยด้วย เช่น สูตร 15-15-15 หรือ สูตร 13-13-21 และ อาจมีการให้ปุ๋ยทางใบเสริมบ้าง นอกจากนี้ควรมีการใส่ปุ๋ยคอก เพื่อช่วยให้ดินมีการระบายน้ำที่ดีขึ้น

ในงานวิจัยเกี่ยวกับเรื่องปุ๋ยเคมีมีนักวิจัยหลายท่าน ได้ศึกษากับพืชอื่นๆ เช่น งานของโชคชัย ไชยมงคล (2534) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยและปัจจัยต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมันฝรั่งบนที่สูงและพื้นที่ราบ จังหวัดเชียงใหม่ ปรากฏว่าการใช้ไนโตรเจน ร่วมกับฟอสฟอรัส และโปแตสเซียม ไม่พบความเสียหายที่เกิดจากหัวเป็นปุ่มปม และการปริแตกของมันฝรั่ง ปุ๋ยสูตรที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ 18-30-30 ในอัตรา 100 กก./ไร่ และการปลูกในพื้นที่ราบไม่มีความแตกต่างของผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างพันธุ์ Russet Burbank, Gold Rus และ Nooksack แต่การปลูกบนที่สูง พันธุ์ Russet Burbank และ Gold Rus ให้ผลผลิตสูงกว่า Nooksack ระยะปลูกที่ให้ความหนาแน่นไม่น้อยกว่า 1 ต้น/ตารางฟุต และหัวพันธุ์ขนาด 50-80 กรัม ให้ศักยภาพผลผลิตสูงสุด

ปิยะวุฒิ พูลสงวน (2535) ได้ศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยและอายุเก็บเกี่ยวต่อผลผลิตมันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆ โดยใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ในอัตราต่างๆ กับมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ กับ อายุการเก็บเกี่ยวที่ต่างกัน พบว่า มันสำปะหลัง พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ให้ผลผลิตสูงสุดทุกอัตราของปุ๋ยที่ทดสอบ อายุการเก็บเกี่ยวก็ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ประสาร พรหมสูงวงศ์ และคณะ (2540) ได้ศึกษาการใช้ปุ๋ยเคมีกับพืชไร่ในดินเหนียว ที่นาถสิกรเขตชลประทานจังหวัดชัยนาทและพิษณุโลก ในฤดูแล้งปี พบว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และข้าวโพดหวานมีอัตราเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีแนวทางการตอบสนองต่อการให้ปุ๋ย อยู่ที่อัตรา 20-30 กก.N/ไร่ ส่วนการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 0-12 กก.P₂O₅/ไร่ กับถั่วเหลืองและถั่วเขียว ปรากฏว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิต

Bokhtiar and Sakurai (2003) รายงานว่า การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ผสมกับปุ๋ยเคมี จะทำให้เพิ่ม leaf area index, น้ำหนักแห้งรวม, ส่วนประกอบคลอโรฟิลล์ และ ความเข้มข้นของ N, P, K และ S ในเนื้อเยื่อพืช เมื่อเทียบกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพียงอย่างเดียว

Dong *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาปุ๋ยเคมีที่มีธาตุอาหารไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ต่างกัน ได้แก่ ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี (Control), NP, NK, PK, NPK, NP₂K และ NPK₂ พบว่า เมื่อใช้ปุ๋ยเคมีสูตรต่างๆ เหล่านี้เป็นเวลานาน จะไม่ส่งผลต่อกลุ่มจุลินทรีย์ในดิน (Soil microbial biomass) และหน้าที่ของจุลินทรีย์ในดิน

Gang *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาถึงผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์กับปุ๋ยเคมีที่มีต่อผลผลิตของข้าวและความอุดมสมบูรณ์ของดินเมื่อใช้เป็นระยะเวลานาน พบว่า การใช้ปุ๋ยอินทรีย์กับปุ๋ยเคมี

จะช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าวและประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าว นอกจากนี้ยังลดความเสี่ยงของมลภาวะที่จะเกิดกับสิ่งแวดล้อม และยังช่วยปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดินให้ดีขึ้นด้วย

Liu *et al.* (2009) รายงานว่า การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ผสมกับปุ๋ยเคมีเพียงจำนวนเล็กน้อยจะช่วยทำให้กลุ่มจุลินทรีย์ในดินมีปริมาณเพิ่มขึ้น และมีการนำไปใช้ของธาตุอาหารในดินมีประสิทธิภาพมากขึ้นดีกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวกับการไม่ใส่ปุ๋ยชนิดใดเลย

2.6 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control of plant pathogens) หมายถึง การที่สิ่งมีชีวิตตั้งแต่หนึ่งชนิดหรือมากกว่าหนึ่งชนิดขึ้นไป ตลอดจนสารสกัดจากธรรมชาติ (Natural products) ได้แก่ สารปฏิชีวนะจากจุลินทรีย์ จากพืช และ แร่ธาตุ เป็นต้น สามารถนำมาใช้ในการลดปริมาณเชื้อก่อโรค (Inoculum) และลดการเกิดโรคได้ โดยมีการจัดการสิ่งแวดล้อมและการปฏิบัติการทางเกษตรกรรมที่เหมาะสม รวมถึงการใช้พันธุ์พืชต้านทานโรค สิ่งสำคัญในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี คือ การพยายามหาวิธีการใหม่ๆ มาทดแทนการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชเพื่อลดปริมาณเชื้อก่อโรคและลดอัตราการเกิดโรคพืช ให้ต่ำกว่าระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ และสามารถนำเทคโนโลยีการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีไปใช้ในทางปฏิบัติร่วมกับการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated pest management, IPM) (เกษม สร้อยทอง, 2548) สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง จุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย แอคติโนมัยซิส (Actinomycetes) ที่มีประสิทธิภาพในการนำมาป้องกันกำจัดโรคพืช อาจจะอยู่ในรูปของการนำสปอร์สด หรือพัฒนาเป็นชีวผลิตภัณฑ์ (Biological products) ก่อนที่จะนำไปใช้ เนื่องจากพื้นที่ทำการเกษตรส่วนใหญ่ในปัจจุบันขาดความสมดุลในระบบนิเวศน์ จึงจำเป็นที่จะต้องนำจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพไปใช้ในพื้นดินนั้น เพื่อป้องกันการเกิดโรคพืชร่วมกับวิธีการอื่นๆ ทดแทนการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช (เกษม สร้อยทอง, 2551) ปัจจุบันนักวิจัยได้ทำการค้นคว้าวิจัยหาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งอาจจะมีวิธีการที่แตกต่างกันไปในการทดสอบเบื้องต้น เช่น การทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม (Bi-culture antagonistic test) หรือ ทดสอบโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้าน (Secondary metabolites) เป็นต้น

ในการนำเทคโนโลยีควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หรือการนำเอาจุลินทรีย์ไปใช้เพื่อความสำเร็จของการลดปริมาณเชื้อก่อโรคและลดอัตราการเกิดโรคพืชนั้น จำเป็นจะต้องศึกษาและทำความเข้าใจถึงกลไกการควบคุมโรค (Control mechanisms) ของจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชหรือจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อโรคพืชว่ามีกลไกหรืออาวุธในการเข้าทำลายเชื้อโรคพืชอย่างไร ซึ่ง เกษม

สร้อยทอง (2548) ได้อธิบายกลไกที่เกี่ยวข้องกับขบวนการต่อต้านเชื้อโรคพืช (Antagonism) 5 ลักษณะคือ

1. การแย่งอาหารกัน (Competition) หมายถึง การที่เชื้อสาเหตุทำให้เกิดโรคพืชและจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อโรคพืชจะแข่งขันกันในการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ จากการแย่งกันดูดซับอาหารพวกสารอินทรีย์ต่างๆ และเจริญเข้าครอบครอง (Colonization) ในบริเวณนั้น ดังนั้นสิ่งมีชีวิตใดเจริญเติบโตได้ดีกว่า จึงหมายถึงมีความสามารถในการแย่งอาหารได้ดีกว่า เช่น การทดสอบเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma harzianum* ร่วมกับเชื้อ *Phytophthora parasitica* และ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยและโรคน้ำดำของวานิลลา ตามลำดับ บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเจริญได้รวดเร็วกว่าเชื้อรา *Phytophthora* และเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิด ได้หมดภายใน 5 วัน หลังจากวางเชื้อ *T. harzianum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้สามารถแย่งอาหารและที่อยู่อาศัยและยังมีความสามารถในการเจริญเติบโตที่เหนือกว่าการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าว (แสงมณี ชิงดวง และคณะ. 2540)

2. การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiosis) จุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อโรคพืช (Antagonistic microorganism) เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยการดูดซับสารละลายอินทรีย์เป็นอาหารในการเจริญแพร่ขยายพันธุ์และปลดปล่อยสารพิษ (Toxin) หรือสารปฏิชีวนะ (Antibiotic substances) ออกมาภายนอก สารดังกล่าวมีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่ในบริเวณนั้นได้ มีผลทำให้เซลล์เชื้อสาเหตุโรคตาย ลดปริมาณลง อ่อนแอลง ความสามารถในการทำให้เกิดโรคลดลง ตัวอย่างของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่สร้างสารปฏิชีวนะได้แก่ *Chaetomium globosum* ที่สร้างสาร Chaetoglobosin C และ ergosterol ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคต่างๆ ได้ เช่น *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. dematium*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora parasitica*, *P. palmivora* และ *Pyricularia oryzae* (Soytong et al. 2001)

3. การเป็นปรสิตของเชื้อก่อโรค (Parasitism) หรือเชื้อราฆ่าเชื้อโรค (Mycoparasite) หมายถึง การที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดสามารถเจริญบนจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่เป็นเชื้อสาเหตุทำให้เกิดโรค โดยดูดน้ำเลี้ยงหรือได้รับอาหาร โดยตรงจากเชื้อสาเหตุโรค จุลินทรีย์ดังกล่าวอาจเรียกว่า เป็นเชื้อราฆ่าเชื้อโรค (Mycoparasite) (เกษม สร้อยทอง. 2548) จากรายงานของแสงมณี ชิงดวง และคณะ (2540) ที่ทำการทดสอบเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma harzianum* ร่วมกับเชื้อ *Phytophthora parasitica* และ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยและโรคน้ำดำของวานิลลาตามลำดับ บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อ *T. harzianum* สร้างเส้นใยเข้าไปสัมผัสกับเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* และพันรัดล้อมรอบเส้นใยแล้วเจริญแทงเข้าไปในเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* และใช้ของเหลวที่อยู่ในเส้นใยเป็นอาหาร โดยพบว่าของเหลวภายในเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* ที่ถูกทำลายจะหายไป เกิดเป็นช่องว่าง ทำให้มีลักษณะแตกต่างจากเส้นใยปกติเป็น

ผลให้เชื้อรา *Phytophthora* ไม่สามารถเจริญต่อไปได้ และยังพบว่าเส้นใยที่ถูกทำลายมีลักษณะโป่งพอง และเมื่อการทำลายรุนแรงมากขึ้นเส้นใยจะสลายตัวไป

4. การขัดขวางการเจริญของเชื้อโรคพืช (Hyphal interference) เป็นกลไกอย่างหนึ่งของจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อโรคพืช ซึ่งสามารถเจริญพันรัดเส้นใยหรือโครงสร้างต่างๆ ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช มีผลต่อการรบกวนหรือขัดขวางการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค ทำให้มีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติไป เสียรูปทรง ความสามารถในการซึมผ่านของของเหลวสู่เซลล์สูญเสียไป (เกษม สร้อยทอง. 2548)

5. การสร้างภูมิคุ้มกันโรค (Plant immunity) เป็นการชักนำให้พืชป้องกันตนเองโดยการปลูกเชื้อหรือการใช้สารเคมีบางชนิด ทำให้พืชเกิดความต้านทานโรคเฉพาะแห่งและกระจายทั่วต้น เนื่องจากพืชในธรรมชาติไม่สามารถสร้างแอนติบอดีมาต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ และกลไกการป้องกันทางชีวเคมีของพืชส่วนใหญ่ จะไม่เกิดขึ้นจนกว่าจะมีสัญญาณเตือน (Signal transmitted) จากเชื้อสาเหตุโรคที่เข้าทำลายเซลล์พืช (เกษม สร้อยทอง. 2548)

ในปัจจุบันการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชได้รับความนิยมน้อยกว่าหลายโดยใช้เชื้อรา *Chaetomium* sp. ที่มีความสามารถในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น Soyong and Quimio (1989) นำเชื้อรา *Ch. globosum* มาควบคุมเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรค rice blast Naik et al. (2009) รายงานว่าเชื้อรา *Ch. globosum* ที่แยกได้จากต้นข้าว พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคมามากที่สุด ได้แก่ เชื้อรา *Nigrospora oryzae* (64.29 เปอร์เซ็นต์), *Rhizoctonia solani* (62.13 เปอร์เซ็นต์), *Alternaria alternata* (62.15 เปอร์เซ็นต์) และ *Phoma sorghina* (62.11 เปอร์เซ็นต์)

Lu et al. (2000) รายงานว่าเชื้อรา endophyte *Colletotrichum* sp. ในชิงเฮาซึ่งเป็นพืชสมุนไพรในประเทศจีน สามารถผลิตสาร antimicrobial metabolites มายับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea* และ *Pseudomonas* sp. และยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Candida albicans* และ *Aspergillus niger* และยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคในพืช *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia cerealis*, *Helminthosporium sativum* และ *Phytophthora capsici*

Malmström et al. (2002) รายงานว่าเชื้อรา *Emericella varicolor* ผลิตสาร bioactive metabolites ซึ่งลดการเกิดโรค breast cancer cell lines ในมนุษย์ได้ Sibounnavong et al. (2008) รายงานว่า bioactive compound จากเชื้อรา *E. nidulans* strain EN มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* นอกจากนี้ Kango et al. (2003) พบว่าเชื้อรา *E. nidulans* NK-62 สามารถสร้างเอนไซม์ xylanase ได้ดีบนอาหารที่ผสมรำข้าวสาลี (Wheat bran) ซึ่งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Silva *et al.* (2006) พบว่า สาร Cadinane sesquiterpenes 5 ชนิด ที่แยกได้โดยวิธี bioassay-guided fractionation จากรา endophyte *Phomopsis cassiae* ที่เจริญอยู่ในต้นจี่เหล็กอเมริกัน (*Cassia spectabilis*) เป็นพืชในตระกูล Caesalpinoideae พบว่า 3, 11, 12-trihydroxycadalene เป็นสารประกอบที่ได้ ที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium sphaerospermum* และ *Cladosporium cladosporioides*

นอกจากนี้ สารสกัดที่ได้จาก *Chaetomium* sp. นอกจากจะนำมาควบคุมโรคพืชแล้ว ยังสามารถนำมาใช้รักษาโรคในมนุษย์ได้ด้วย เช่น รายงานของ Phonkerd *et al.* (2008) กล่าวว่า สารที่พบใน *Chaetomium cochliodes* VTh01 และ *C. cochliodes* CTh05 พบว่า สาร chaetoviridines E และ D, chaetochalasin A และ 24(R)-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6-22-diene-3 β -ol สามารถต่อต้านเชื้อ *Plasmodium falciparum* ในขณะที่สาร cochliodones C, chaetoviridines E และ D, chaetochalasin A และ 24(R)-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6-22-diene-3 β -ol ช่วยต่อต้านเชื้อโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis*

Kanokmedhakul *et al.* (2002) รายงานว่า สาร metabolites ที่ได้จากเชื้อรา *Ch. globosum* KMITL-N0802 ชื่อ chaetomanone และ echinulin สามารถยับยั้งการเกิดโรคในมนุษย์ที่เกิดจากเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis*

Ding *et al.* (2006) รายงานว่า สาร metabolites ชื่อ chaetoglobosin U ที่แยกได้จากเชื้อรา *Ch. globosum* IFB-E019 พบว่า สามารถต่อต้านการเกิดโรค nasopharyngeal epidermoid tumor KB cell line มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 16 μ M

Kanokmedhakul *et al.* (2006) พบสารกลุ่ม azaphilones ใหม่ 3 สาร ได้แก่ rotiorinols A-C (1-3) สารกลุ่ม stereoisomers 2 สาร คือ (-)-rotiorin (4) และ epi-isochromoplilone II (5) และ ไม่ทราบกลุ่ม คือ rubrorotiorin (6) ที่แยกได้จากเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC3003 จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสาร 1, 3, 4 และ 6 สามารถต่อต้านเชื้อ *Candida albicans* โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 10.5, 16.7, 24.3 และ 0.6 μ m/ml ตามลำดับ

Khumkomkhet *et al.* (2009) พบว่า มีสารประกอบที่ได้จากเชื้อรา *Chaetomium brasiliense* คือ mollicellins K สามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสาเหตุโรคในมนุษย์ เช่น *Mycobacterium tuberculosis* และ *Candida albicans* และที่สำคัญสารประกอบที่พบทั้ง 10 ตัว สามารถต่อต้านการเกิดเซลล์มะเร็งได้

Moosophon *et al.* (2009) ได้รายงานที่พบสารประกอบที่ได้จากเชื้อรา *Emericella rugulosa* สามารถต่อต้านการเกิดโรคในมนุษย์ เช่น โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โรคมาลาเรีย และ เซลล์มะเร็ง ซึ่งสารประกอบที่พบนี้ คือ rugulosone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลาแต่ละสายพันธุ์

โดยทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต ระบบราก ลำต้น ใบ ช่อดอก ดอก ฝัก ของวานิลาจำนวน 5 สายพันธุ์ คือ *Vanilla albida* Blume, *V. pilifera* Holttum, *V. planifolia* Andrews, *V. siamensis* Rolfe ex Downie และ *V. aphylla* Blume ที่เรือนเพาะชำพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี และ ที่เรือนทดลองศึกษาระบาดวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลาแต่ละสายพันธุ์

โดยทำการศึกษาเชื้อรา endophyte, epiphyte และ saprophyte ของวานิลา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla*

ในการแยกเชื้อรา endophyte ในวานิลาแต่ละสายพันธุ์ ทำได้โดยนำไป ลำต้น และ รากของวานิลาแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่เป็นโรคมาทำการแยกเชื้อรา ซึ่งคัดแปลงมาจากวิธีการของ Photita *et al.* (2001) โดยนำตัวอย่างวานิลาล้างน้ำสะอาด ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูหนึ่งผืน นำไปวานิลาคัดด้วยใบมีดโกนจุ่มแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ไฟผ่าเชื้อ ให้มีขนาด 5x5 มิลลิเมตร ลำต้นตัดยาว 5 มิลลิเมตร และ รากตัดยาว 1 เซนติเมตร นำชิ้นส่วนตัวอย่างที่ตัดแล้วแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที Clorox 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที และแช่ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที จากนั้นล้างน้ำกลั่นหนึ่งผืน แล้วซับให้แห้งบนกระดาษทิชชูหนึ่งผืน นำชิ้นส่วนตัวอย่างวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-32 องศาเซลเซียส) สังเกตการเจริญของเส้นใยเชื้อราทุกวัน เมื่อพบเส้นใยเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนตัวอย่าง ให้เขี่ยลงบนอาหาร PDA เพื่อให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์และย้ายลง PDA slant เพื่อเก็บรักษาเชื้อราบริสุทธิ์และทำการจัดจำแนกเชื้อราที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จัดบันทึกรายละเอียดของเชื้อราแต่ละไอโซเลทและถ่ายภาพลักษณะสำคัญต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ในการแยกเชื้อรา epiphyte ในวานิลาแต่ละสายพันธุ์ทำได้โดยนำไป ลำต้น และ ราก ของวานิลาแต่ละสายพันธุ์ที่ไม่เป็นโรค มาทำการแยกเชื้อรา ซึ่งคัดแปลงวิธีการมาจาก Santamaría and

Bayman (2005) โดยนำตัวอย่างวานิลาตัดด้วยใบมีด โคนจุ่มแอลกอฮอล์ไฟฆ่าเชื้อ ตัดใบวานิลาให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร ลำต้นและรากตัดให้มีขนาดยาว 2 เซนติเมตร นำชิ้นส่วนตัวอย่างที่ตัดแล้ววางบนอาหาร PDA นาน 2 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนตัวอย่างออกจากบนอาหาร PDA บ่มจนอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-32 องศาเซลเซียส) สังเกตการเจริญของเส้นใยเชื้อราทุกวัน เมื่อพบเส้นใยเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนตัวอย่าง ให้เขี่ยลงบนอาหาร PDA เพื่อให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์และย้ายลง PDA slant เพื่อเก็บรักษาเชื้อราบริสุทธิ์และทำการจัดจำแนกเชื้อราที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จัดบันทึกรายละเอียดของเชื้อราแต่ละไอโซเลทและถ่ายภาพลักษณะสำคัญต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ในการแยกเชื้อรา saprophyte ในวานิลาแต่ละสายพันธุ์ทำได้โดย นำเศษซากใบ และ ลำต้น ที่ร่วงหล่นบริเวณพื้นที่ปลูกวานิลาแต่ละสายพันธุ์ มาทำการแยกเชื้อรา saprophyte โดยนำชิ้นส่วนตัวอย่างวานิลามาใส่ในกล่องพลาสติกที่ฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยภายในกล่องมีกระดาษทิชชูหนึ่งฆ่าเชื้อที่ใส่น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อจนกระดาษเปียก สังเกตการเจริญของเชื้อรา เมื่อพบเห็นเส้นใยเชื้อราเจริญให้เขี่ยลงบนอาหาร PDA เพื่อให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์และย้ายลง PDA slant เพื่อเก็บรักษาเชื้อราบริสุทธิ์ และทำการจัดจำแนกเชื้อราที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จัดบันทึกรายละเอียดของเชื้อราแต่ละไอโซเลทและถ่ายภาพลักษณะสำคัญต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3 การศึกษาเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของวานิลาและทดสอบความสามารถในการเกิดโรค

การศึกษาลักษณะอาการและการแยกเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสของวานิลา โดยสำรวจโรคแอนแทรคโนสที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับส่วนต่างๆ ได้แก่ ใบ และ ลำต้นของวานิลา 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia* และ *V. siamensis* ที่เรือนเพาะชำพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี นำมาแยกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของวานิลา โดยวิธีการ Tissue transplant technique บนอาหาร WA (Water agar) และย้ายลงบนอาหาร PDA จนได้เชื้อบริสุทธิ์และย้ายลง PDA slant การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของวานิลา โดยนำเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทุกไอโซเลทที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา ลักษณะโคโลนี เส้นใย และ สปอร์ โดยตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมทั้งจัดบันทึกรายละเอียดของเชื้อราแต่ละไอโซเลท และถ่ายภาพลักษณะสำคัญต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (Pathogenicity test) ทำการทดลองแบบ CRD (Completely randomized design) โดยนำเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทุกไอโซเลทที่แยกได้จาก *V. albida* มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคนบนใบ *V. albida* เพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดของ *V. albida* สำหรับการคัดเลือกไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดของ *V. pilifera*, *V. planifolia* และ *V. siamensis* ปฏิบัติในทำนองเดียวกันในการคัดเลือกไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดในวานิลาแต่ละสายพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป นำเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทุกไอโซเลทที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 10 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เจาะบริเวณขอบโคโลนี จากนั้นย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อสาเหตุโรคลงบนใบวานิลาที่ทำแผลด้วยปลายเข็มลนไฟฆ่าเชื้อจำนวน 10 รูต่อแผล โดยทำใบละ 3 แผล จำนวน 4 ใบ การทดลองเปรียบเทียบ (control) ใช้อาหาร PDA อย่างเดียว จากนั้นนำใบวานิลาที่ปลูกเชื้อแล้วไปบ่มไว้ในสภาพให้ความชื้น ในกล่องพลาสติกมีฝาปิดและมีกระดาษทิชชูหนึ่งฆ่าเชื้อที่ใส่น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อลงไป ตรวจสอบผลการทดลองหลังการปลูกเชื้อ โดยสังเกตการเกิดอาการโรคนบนแผล วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลที่ทำการปลูกเชื้อเปรียบเทียบกับ control จากนั้นคัดเลือกไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดในวานิลาแต่ละสายพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4 การทดสอบการตอบสนองของวานิลาที่มีต่อปุ๋ยเคมี

ทำการทดลองกับต้นวานิลา 5 สายพันธุ์ คือ *Vanilla albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* ทดสอบกับปุ๋ยเคมี 2 สูตร คือ สูตร 15-15-15 และ สูตร 8-24-24 โดยนำต้นวานิลาแต่ละสายพันธุ์ที่ตัดนำมาปักชำ ปลูกในกระถางพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้ว กับวัสดุปลูก คือ ทราย กากมะพร้าวสับและขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1:2 โดยปริมาตร เมื่อต้นวานิลาแต่ละสายพันธุ์อายุ 1 เดือน ทำการใส่ปุ๋ยในปริมาณ 1 กรัมต่อต้น โดยโรยรอบๆ โคนต้นเดือนละครั้ง ทำการทดลองแบบ 5x3 factorials in CRD จำนวน 4 ซ้ำ

ปัจจัย A คือ สายพันธุ์ของวานิลา คือ

A1 = *Vanilla albida*

A2 = *Vanilla pilifera*

A3 = *Vanilla planifolia*

A4 = *Vanilla siamensis*

A5 = *Vanilla aphylla*

ปัจจัย B คือ ชนิดของสูตรปุ๋ยเคมี

B1 = ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี

B2 = ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ปริมาณ 1 กรัมต่อต้น

B3 = ปุยเคมีสูตร 8-24-24 ปริมาณ 1 กรัมต่อดัน

ทำการวัดผลและเก็บข้อมูล โดยเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต วัดความยาวของเถา นับจำนวนใบ นับจำนวนตาที่แตกขึ้นใหม่ เก็บข้อมูลเป็นเวลา 3 เดือน ทำการวิเคราะห์ข้อมูล analysis of variance โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

3.5 การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (Microbial antagonists) ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในสภาพห้องปฏิบัติการ และในสภาพกระถางทดลองของวานิลาสายพันธุ์ที่ทดลองปลูกเชิงการค้า

3.5.1 ศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์โดยวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วม (Bi-culture antagonistic tests)

โดยทำการคัดเลือกเชื้อราที่ได้จากการแยกเชื้อรา endophyte, epiphyte และ saprophyte ของวานิลาแต่ละสายพันธุ์ และ เชื้อราที่ได้รับความอนุเคราะห์จากรองศาสตราจารย์ ดร.เกษม สร้อยทอง คือ *Chaetomium elatum* เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบ นำเชื้อราต่อต้านมาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของวานิลาแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทำการเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสไอโซเลทที่เกิดโรครุนแรงที่สุดของวานิลาแต่ละสายพันธุ์ และเชื้อราต่อต้านบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (23-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ลนไฟฆ่าเชื้อ เาะบริเวณขอบ โคลโลนีของเชื้อราสาเหตุและเชื้อราต่อต้าน จากนั้นย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราต่อต้านแต่ละชนิดจำนวน 1 ชิ้นต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางบนอาหาร PDA และย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราสาเหตุโรควางด้านตรงข้ามกับชิ้นวุ้นเชื้อราต่อต้าน ให้มีระยะห่างพอประมาณ โดยทดสอบเชื้อราต่อต้านแต่ละชนิดแยกต่างหากจากกัน ทำการเลี้ยงเชื้อราต่อต้านและเชื้อราสาเหตุโรคแต่ละชนิดแยกจากกันบนอาหาร PDA เป็นตัวเปรียบเทียบ บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 วัน โดยทำการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ เก็บผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (Growth inhibition, GI) ดังนี้ $GI = ((R1-R2) / R1 \times 100)$ โดย $R1$ = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเปรียบเทียบ และ $R2$ = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม และทำการวิเคราะห์ข้อมูล analysis of variance โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

3.5.2 การทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบ (Crude extract test)

คัดเลือกเชื้อราต่อต้านที่มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในแตงกวาโหลจากวิธีการเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วมมา 2-3 ตัว นำมาสกัดสารสกัดหยาบ โดยเลี้ยงเชื้อราต่อต้านแต่ละชนิดในอาหาร PDB (Potato dextrose broth) เป็นเวลา 30 วัน หลังจากนั้นนำเส้นใยเชื้อราแต่ละชนิดมากรองโดยใช้ตะแกรงและตากให้แห้ง ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง บันทึกข้อมูล นำเส้นใยแห้ง (Mycelium dry mat) บดให้ละเอียดด้วยโกร่ง นำเส้นใยที่บดใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ประมาณ 100 มิลลิลิตร จากนั้นแช่ด้วยตัวทำละลาย hexane ในปริมาตร 1:1 เขย่าบน shaker นาน 1 วัน หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง whattman No.4 แยกกากกับสารละลาย นำสารละลายที่ได้เก็บไว้ นำกากที่แยกออกแช่ด้วยตัวทำละลาย hexane อีกครั้ง เขย่าบน shaker นาน 1 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่กรองได้ไปกลั่นตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary vacuum evaporator ส่วนที่ได้จากการกลั่นตัวทำละลายออก เรียกว่า สารสกัดหยาบ (Crude extract) เก็บในภาชนะแล้วชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ แล้วนำกากที่ได้จากการกรองไปแช่ในตัวทำละลายอื่นต่อไป คือ ethyl acetate (EtOAc) และ methanol (MeOH) ตามลำดับ ดังภาพที่ 3.1 (Kanokmedhakul *et al.* 2006)

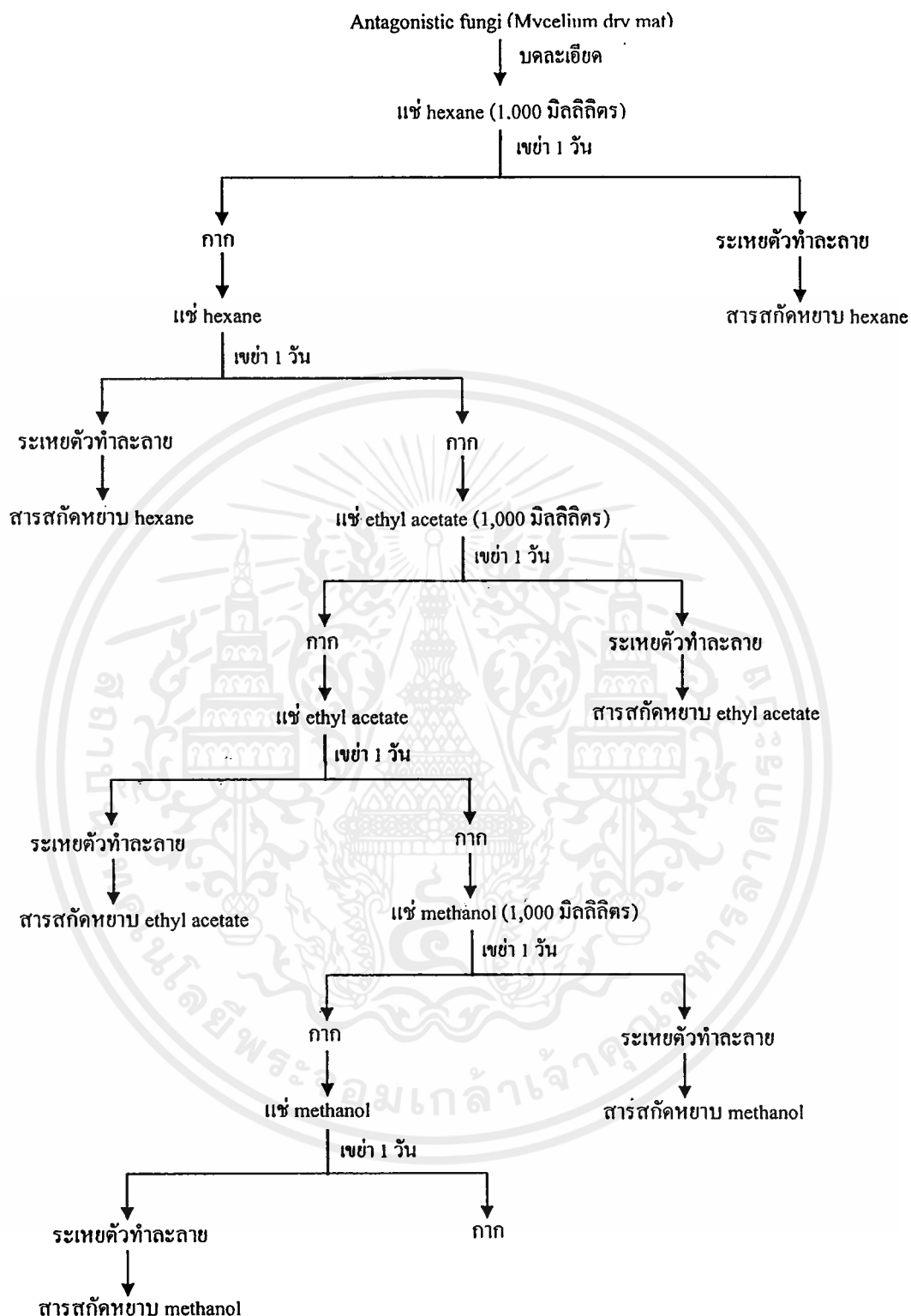
นำสารสกัดหยาบที่ได้ มาทดสอบโดยใช้ 2 เเปอร์เซ็นต์ DMSO (Dimethylsulfoxide) เป็นตัวทำละลาย ทำการทดลองแบบ 3x6 factorials in CRD จำนวน 4 ซ้ำ

ปัจจัย A คือ ชนิดของสารสกัดหยาบ คือ

- A1 = สารสกัดหยาบ hexane
- A2 = สารสกัดหยาบ ethyl acetate
- A3 = สารสกัดหยาบ methanol

ปัจจัย B คือ ระดับของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ มี 6 ระดับ คือ

- B1 = ความเข้มข้น 0 $\mu\text{g/ml}$
- B2 = ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$
- B3 = ความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$
- B4 = ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$
- B5 = ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$
- B6 = ความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ภาพที่ 3.1 แผนผังแสดงการสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใย Antagonistic fungi (Kanokmedhakul et al. 2006)
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และห้องข้อมูลของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำ ไปใช้

จากนั้นนำสารสกัดหยาบผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ และเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *C. gloeosporioides* ไอโซเลทที่รุนแรงที่สุดของวานิลาแต่ละสายพันธุ์บนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-10 วัน จากนั้นนำ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร ลงไฟฆ่าเชื้อและเจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค และนำชิ้นวุ้นไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ที่มีอาหาร PDA ผสมกับสารสกัดหยาบ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ที่อายุ 5 วัน นับจำนวนสปอร์ ที่อายุ 7 วัน และทำการศึกษาลักษณะความผิดปกติของสปอร์ โดยส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำการวิเคราะห์ข้อมูล analysis of variance โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ หาค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค และหาค่าปริมาณของสารที่มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและทำให้สปอร์ตายไปที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (effective dose: ED_{50}) ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิด

3.5.3 การทดสอบควบคุมโรคแอนแทรกโนสในกระถาง

ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของวานิลาในกระถางทดลอง โดยใช้เชื้อราต่อต้านที่ได้จากวิธีการ 3.5.1 โดยทดลองกับวานิลา 4 สายพันธุ์ คือ *Vanilla albida*, *V. ptilifera*, *V. planifolia* และ *V. siamensis* โดยนำวานิลาแต่ละสายพันธุ์ตัดนำมาปักชำ ปลูกในกระถางพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้ว กับวัสดุปลูก คือ ทราย กากมะพร้าวสับและขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1:2 โดยปริมาตร เมื่อบานิลาแต่ละสายพันธุ์อายุ 4 เดือน ทำการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เป็นเชื้อราสาเหตุโรคไอโซเลทที่รุนแรงที่สุดของวานิลาแต่ละสายพันธุ์แยกต่างหากจากกัน ลงบนต้นวานิลาทดสอบโดยใช้ spore suspension ของเชื้อราสาเหตุที่ระดับความเข้มข้น 2.5×10^6 spore/ml (เสาวภาคย์ สุวรรณพงษ์, 2547) ฉีดพ่นลงบนใบวานิลาที่ทำแผลด้วยปลายเข็มลงไฟฆ่าเชื้อ จำนวน 10 รูดต่อแผล ทำใบละ 2 แผล จำนวน 4 ใบ และทำการฉีดพ่นสารสกัดหยาบ (crude extract) และชีวผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อราต่อต้านชนิดที่ 1 และ เชื้อราต่อต้านชนิดที่ 2 หลังจากฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคแล้ว โดยขั้นตอนการผลิตสารสกัดหยาบ ได้อธิบายไว้ดังภาพที่ 3.1 จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากสารละลายทั้ง 3 ตัว โดยชั่งสารสกัดหยาบมาอย่างละ 0.33 กรัม นำมารวมกันและปั่นให้ละเอียดกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง homogenizer IKA รุ่น T10 basic (ภาพที่ 3.2) ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร นำไปใช้ในการทดลอง โดยการฉีดพ่นลงบนต้นวานิลา ทุกๆ 15 วัน และ วิธีการผลิตชีวผลิตภัณฑ์แบบน้ำมัน โดยใช้น้ำมันปาล์มที่ผสม emulsifier แล้ว 70 มิลลิลิตร ที่นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ และ spore suspension ของเชื้อราต่อต้าน 30 มิลลิลิตร ซึ่งมาจากการนำเชื้อราต่อต้านชนิดที่ 1 และ เชื้อราต่อต้านชนิดที่ 2 เลี้ยงบนอาหาร PDB เป็นเวลา 30 วัน แล้วนำ

เชื้อราต่อต้านมาปั่นด้วยเครื่องปั่น กรองเอาเส้นใยเชื้อราออกโดยใช้ผ้าขาวบาง แล้วนำเอา spore suspension ของเชื้อราต่อต้านมาใช้ เมื่อได้ส่วนประกอบครบแล้วจึงนำมาผสมให้เข้ากัน โดยใช้ เครื่องกวนผสมสารตัวอย่าง (Motor Stirrers Model) IKA รุ่น RW 20 digital (ภาพที่ 3.2) ปั่นให้เข้ากัน นับปริมาณสปอร์ให้ได้ 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (Bankole and Adebajo. 1996) กรอกใส่ขวดพลาสติก ไว้ใช้ในการทดลอง โดยใช้ในอัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 2 ลิตร ฉีดพ่นลงบนต้นวานิลาทุกๆ 15 วัน ทำการทดลองแบบ RCBD จำนวน 4 ซ้ำ มี 5 วิธีการทดลอง คือ

T1 = วิธีการเปรียบเทียบ (control) plugged เชื้อสาเหตุโรคร่านั้น

T2 = ใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้านชนิดที่ 1 อัตรา 1 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร

T3 = ใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้านชนิดที่ 2 อัตรา 1 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร

T4 = ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อราต่อต้านชนิดที่ 1 อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 2 ลิตร

T5 = ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อราต่อต้านชนิดที่ 2 อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 2 ลิตร

ประเมินผลการเกิดโรค โดยทำการประเมินระดับการเกิดโรค (Disease index) ที่เกิดบนต้นวานิลาหลังการทดลอง โดยให้ระดับการเกิดโรค ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบ ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-40 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 41-60 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 61-80 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (กัญชฎิกา รัตนเชิดฉาย. 2548) ทำการวิเคราะห์ข้อมูล analysis of variance โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่...
ภาพที่ 3.2 แสดงภาพเครื่อง homogenizer a) และ เครื่องกวนผสมสารตัวอย่าง b)
 ไม่ว่าจะพิมพ์ใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลาแต่ละสายพันธุ์

จากการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลาที่ปลูกในบริเวณเรือนเพาะชำพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานีและบริเวณเรือนทดลอง ดึกเห็คราวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* พบว่า วานิลาแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะขนาดของลำต้น ขนาดและรูปร่างของใบวานิลา ลักษณะของดอกที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.1 และ ภาพที่ 4.1 – ภาพที่ 4.5

ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบลักษณะของวานิลา 5 สายพันธุ์

สายพันธุ์วานิลา	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
<i>Vanilla albida</i>	ลำต้น เป็นเถายาวทรงกระบอก สีเขียวเข้ม มีลักษณะอวบน้ำ เปราะ เมื่อโค้งงอจะหักง่าย เส้นผ่าศูนย์กลางเถาประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร ความยาวปล้องประมาณ 5-11 เซนติเมตร
	ใบ มีการจัดเรียงของใบแบบใบสลับกัน (Alternate) รูปใบแบบขอบขนานปลายแหลม (Oblong-elliptic) ถึง แบบใบหอก (Lanceolate) ปลายใบแหลม (Acute) โคนใบมีลักษณะสอบเรียว (Attenuate) ขอบใบเรียบ (Entire) มีการจัดเรียงของเส้นใบเป็นแบบขนาน (Parallel) ลักษณะของผิวใบเกลี้ยง (Glabrous) ใบอวบน้ำ เปราะ สีเขียวเข้ม มีขนาดกว้าง 2.2-5 เซนติเมตร ยาว 8.5-20 เซนติเมตร ก้านใบสั้น
	ราก เจริญออกตามข้อตรงข้ามกับใบ มีทั้งรากอากาศไว้ยึดเกาะ และรากบริเวณโคนไว้ดูดแร่ธาตุและอาหาร
	ช่อดอก ลักษณะช่อเป็นแบบช่อกระจุก (Raceme) เกิดตรงบริเวณตาตรงซอกใบ ช่อดอกยาวประมาณ 1.5-3 เซนติเมตร 1 ช่อดอกจะมีดอกประมาณ 1-6 ดอก ดอกวานิลา กลิบบอกมีสีขาวออกเหลือง กลีบดอกหนา รังไข่มีสีเขียว ดอกจะออกในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยจะออกดอกเพียงปีละ 1 ครั้ง

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

สายพันธุ์วานิลลา	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
<i>Vanilla albida</i>	ผล เป็นแบบแคปซูล (Capsules) มีลักษณะคล้ายทรงกระบอกแคบ โป่งตรงปลายฝัก ฝักยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร มีสีเขียวและจะเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อฝักแก่
<i>Vanilla pilifera</i>	ลำต้น เป็นเถายาวทรงกระบอก สีเขียวเข้ม มีลักษณะอวบน้ำ เพราะเมื่อโค้งงอจะหักง่าย เส้นผ่าศูนย์กลางเถาประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร ความยาวปล้องประมาณ 7-10 เซนติเมตร บริเวณข้อจะกอดกิ่ง
	ใบ มีการจัดเรียงของใบแบบใบสลับกัน รูปใบแบบขอบขนานปลายแหลม ถึง แบบใบหอก ปลายใบเรียวแหลม (Acuminate) โคนใบมีลักษณะสอบเรียว ขอบใบเรียบ มีการจัดเรียงของเส้นใบเป็นแบบขนาน ลักษณะของผิวใบเกลี้ยง ใบแบน อวบน้ำ เพราะสีเขียวเข้ม มีขนาดกว้าง 2-4 เซนติเมตร ยาว 5.8-14 เซนติเมตร ก้านใบสั้น
	ราก เจริญออกตามข้อตรงข้ามกับใบ มีทั้งรากอากาศไว้ยึดเกาะ และรากบริเวณ โคนไว้ดูดแร่ธาตุและอาหาร
	ช่อดอก ลักษณะช่อเป็นแบบช่อกระจุก เกิดตรงบริเวณตาตรงซอกใบ ช่อดอกยาวประมาณ 1.5-3 เซนติเมตร 1 ช่อดอกจะมีดอกประมาณ 1-6 ดอก ดอกวานิลลา กลีบดอกมีสีครีมและมีแถบสีเขียว ด้านหลังกลีบ กลีบดอกหนา รังไข่มีสีเขียวอ่อน ดอกจะออกในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยจะออกดอกเพียงปีละ 1 ครั้ง
	ผล เป็นแบบแคปซูล มีลักษณะคล้ายทรงกระบอกแคบ โป่งตรงปลายฝัก ฝักยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร มีสีเขียวและจะเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อฝักแก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

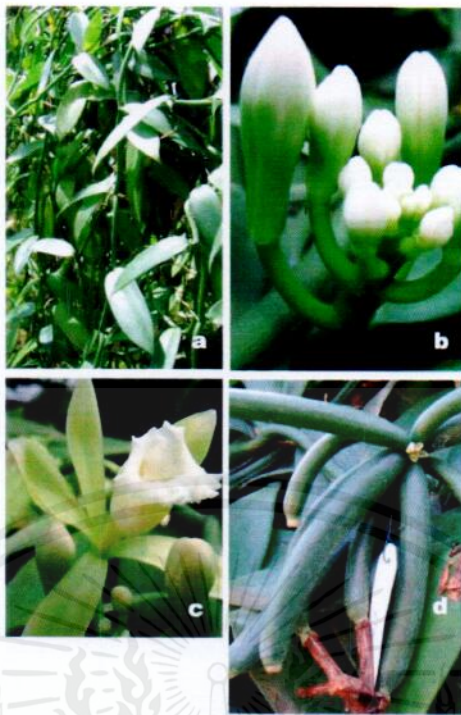
สายพันธุ์วานิลลา	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	
<i>Vanilla planifolia</i>	ลำต้น	เป็นเถายาวทรงกระบอก สีเขียวเข้ม มีลักษณะอวบน้ำ เปราะ เมื่อโค้งงอจะหักง่าย เส้นผ่าศูนย์กลางเถาประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร ความยาวปล้องประมาณ 9-14 เซนติเมตร
	ใบ	มีการจัดเรียงของใบแบบใบสลับกัน รูปใบแบบขอบขนานปลายแหลม ถึง แบบใบหอก ปลายใบเรียวแหลม จนถึง แหลม โคนใบมีลักษณะสอบเรียว ขอบใบเรียบ มีการจัดเรียงของเส้นใบเป็นแบบขนาน ลักษณะของผิวใบเกลี้ยง ใบแบนและหนา อวบน้ำ เปราะ สีเขียวเข้ม มีขนาดกว้าง 3.2-8 เซนติเมตร ยาว 10-23 เซนติเมตร ก้านใบสั้น
	ราก	เจริญออกตามข้อตรงข้ามกับใบ มีทั้งรากอากาศไว้ยึดเกาะ และรากบริเวณ โคนไว้ดูดแร่ธาตุและอาหาร
	ช่อดอก	ลักษณะช่อเป็นแบบช่อกระจุก เกิดตรงบริเวณตาตรงซอกใบ ช่อดอกยาวประมาณ 1.5-3 เซนติเมตร 1 ช่อดอกจะมีดอกประมาณ 1-6 ดอก ดอกวานิลลา กลีบดอกมีสีเขียวอ่อนและมีแถบสีเขียว ด้านหลังกลีบ กลีบดอกหนา รังไข่มีสีเขียวเข้ม ดอกจะออกในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยจะออกดอกเพียงปีละ 1 ครั้ง
<i>Vanilla siamensis</i>	ผล	เป็นแบบแคปซูล มีลักษณะคล้ายทรงกระบอกแคบ โป่งตรง ปลายฝัก ฝักยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร มีสีเขียวเข้มและจะเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อฝักแก่
	ลำต้น	เป็นเถายาวทรงกระบอก สีเขียวเข้ม มีลักษณะอวบน้ำ เปราะ เมื่อโค้งงอจะหักง่าย เถามีขนาดใหญ่กว่าวานิลลาสายพันธุ์อื่นเล็กน้อย เส้นผ่าศูนย์กลางเถาประมาณ 1-1.8 เซนติเมตร ความยาวปล้องประมาณ 10-40 เซนติเมตร
	ใบ	มีการจัดเรียงของใบแบบใบสลับกัน รูปใบแบบรูปรี (Elliptic) ปลายใบแหลม หรือ มน (Obtuse) โคนใบกลม (Rounded) ขอบใบเรียบ มีการจัดเรียงของเส้นใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเท่านั้น ไม่ควรนำออกจำหน่ายโดยไม่ได้รับอนุญาต หากมีการนำออกไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต อาจทำให้ข้อมูลผิดพลาดและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

สายพันธุ์วานิลลา	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	
<i>Vanilla siamensis</i>	ใบ	เป็นแบบขนาน ลักษณะของผิวใบเกลี้ยง ใบแบน อวบน้ำ เปราะ สีเขียวเข้ม ใบมีขนาดใหญ่ กว้างประมาณ 5-12 เซนติเมตร ยาวประมาณ 7.5-25 เซนติเมตร
	ราก	เจริญออกตามข้อตรงข้ามกับใบ มีทั้งรากอากาศไว้ยึดเกาะ และรากบริเวณโคนไว้คูดแร่ธาตุและอาหาร
	ช่อดอก	ยังไม่เคยออกดอก
	ผล	-
<i>Vanilla aphylla</i>	ลำต้น	มีลักษณะกลมแบน ผิวเรียบเป็นร่องยาว 2 ข้าง สีเขียวเข้ม มีลักษณะอวบน้ำ เปราะ เมื่อโค้งงอจะหักง่าย เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร
	ใบ	มีการจัดเรียงของใบแบบใบสลับกัน ใบจะลดรูปเป็นแผ่นสามเหลี่ยม ขนาดเล็ก สีเขียว
	ราก	เจริญออกตามข้อตรงข้ามกับใบ มีทั้งรากอากาศไว้ยึดเกาะ และรากบริเวณโคนไว้คูดแร่ธาตุและอาหาร
	ช่อดอก	ลักษณะช่อเป็นแบบช่อกระจุก เกิดตรงบริเวณตาตรงซอกใบ ประมาณ 2-3 ดอก ก้านช่อดอกสั้นประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ดอกวานิลลา กลีบดอกและกลีบเลี้ยงมีสีเหลืองออกเขียวอ่อน พู่ตรงกลางมีสีม่วง รังไข่มีสีเขียวอ่อน ดอกจะออกตลอดปี
ผล	เป็นแบบแคปซูล มีลักษณะคล้ายทรงกระบอกแคบ โป่งตรงปลายฝัก ฝักยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร มีสีเขียวเข้มและจะเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อฝักแก่	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของ *Vanilla albida* (a) ลำต้น และ ใบ (b) ลักษณะช่อดอก (c) ลักษณะดอก (d) ลักษณะผลแบบแคปซูล อายุ 45 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ
ภาพที่ 4.2 ลักษณะของ *Vanilla pififera* (a) ลำต้น และ ใบ (b) ลักษณะช่อดอก (c) ลักษณะดอก (d) ลักษณะผลแบบแคปซูล อายุ 45 วัน



ภาพที่ 4.3 ลักษณะของ *Vanilla planifolia* (a) ลำต้น และ ใบ (b) ลักษณะช่อดอก (c) ลักษณะดอก (d) ลักษณะผลแบบแถบชูต อายุ 15 วัน



ภาพที่ 4.4 ลักษณะของ *Vanilla siamensis* (a) และ (b) ลักษณะลำต้น และ ใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ลักษณะของ *Vanilla aphylla* (a) ลำต้นที่พันอยู่บนหลัก (b) ลำต้น ใบ และ ลักษณะช่อดอก (c) ลักษณะดอก

4.2 การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลาแต่ละสายพันธุ์

จากการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลา โดยทำการแยกเชื้อรา endophyte (ภาพที่ 4.6) epiphyte และ saprophyte ของวานิลา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* พบเชื้อรา endophyte จำนวน 301 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อราในกลุ่ม Deuteromycotina 9 genus เช่น *Alternaria alternate*, *Cladosporium cladosporioides*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Nigrospora sphaerica* และ กลุ่ม Ascomycotina 6 genus เช่น *Chaetomium*, *Phoma* spp., *Phomopsis* spp. และ *Xylaria* spp. ตารางที่ 4.2 พบเชื้อรา epiphyte จำนวน 175 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อราในกลุ่ม Deuteromycotina 15 genus เช่น

Alternaria alternate, *Aspergillus*, *Gliocladium virens*, *Myrothecium roridum* และ *Penicillium* และ กลุ่ม Ascomycotina 4 genus เช่น *Chaetomella raphigera*, *Emericella nidulans* และ *Phoma* ตารางที่ 4.3 พบเชื้อรา saprophyte จำนวน 43 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อราในกลุ่ม Deuteromycotina 9 genus เช่น *Acremonium* spp., *Cladosporium cladosporioides*, *Memnoniella echinata* และ *Syncephalastrum racemosum* และ กลุ่ม Ascomycotina 2 genus เช่น *Chaetomium bostrychodes* และ *Emericella nidulans* ตารางที่ 4.4 ดังภาพที่ 4.7-4.39



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 เชื้อรา endophyte ที่แยกได้จากวานิลลา 5 สายพันธุ์

เชื้อรา	VA	VI	VP	VS	VL
Deuteromycotina					
<i>Alternaria alternata</i>	2	-	-	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	-	-	2	-
<i>Curvularia lunata</i>	-	-	3	-	-
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (non setae)	17	42	29	35	23
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> 2 (setae)	4	10	9	9	4
<i>Gongonella</i> spp.*	-	-	-	1	-
<i>Nigrospora sphaerica</i> *	1	-	-	-	-
<i>Phyllosticta ilicicola</i>	-	10	11	7	11
<i>Trichoderma</i> spp.*	-	1	-	-	-
Sterile fungi	11	6	5	4	1
Ascomycotina					
<i>Chaetomium bostrychodes</i> *	-	1	-	-	-
<i>Chaetomium brasiliense</i> *	2	-	-	-	-
<i>Chaetomium malaysiense</i> *	-	-	2	-	-
<i>Guignardia</i> spp.	-	2	1	-	-
<i>Leptosphaeria</i> spp.*	-	1	-	-	-
<i>Phoma</i> spp.	-	1	-	-	-
<i>Phomopsis</i> spp.	2	-	-	-	-
<i>Xylaria</i> spp.	8	9	1	3	7

หมายเหตุ : VA = *Vanilla albida*, VI = *V. pilifera*, VP = *V. planifolia*, VS = *V. siamensis*,
VL = *V. aphylla*

*เชื้อราที่นำมาทดสอบคุณสมบัติเป็นเชื้อราต่อต้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.3 เชื้อรา epiphyte ที่แยกได้จากวานิลลา 5 สายพันธุ์

เชื้อรา	VA	VI	VP	VS	VL
Deuteromycotina					
<i>Alternaria tenuissima</i>	-	-	-	-	1
<i>Apiospora montagnei</i> *	-	-	1	1	-
<i>Aspergillus niger</i>	8	5	-	6	1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	2	3	-
<i>Aspergillus terreus</i>	-	2	-	1	2
<i>Aspergillus</i> spp.	-	2	-	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	-	2	-	-
<i>Curvularia lunata</i>	-	-	-	-	2
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (non setae)	-	2	7	4	1
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (setae)	-	1	-	-	-
<i>Fusarium</i> spp.	-	1	1	2	-
<i>Gliocladium virens</i> *	-	-	-	-	2
<i>Myrothecium roridum</i> *	-	-	2	-	14
<i>Nigrospora sphaerica</i> *	-	-	-	2	-
<i>Papulaspora immerse</i> *	-	-	1	-	-
<i>Penicillium atrovenetum</i>	4	-	-	-	-
<i>Penicillium citrinum</i>	-	-	-	-	2
<i>Penicillium frequentans</i>	-	1	-	-	-
<i>Penicillium steckii</i>	-	-	-	-	1
<i>Penicillium</i> spp.	-	4	2	2	4
<i>Pithomyces</i> spp.*	-	-	-	-	1
<i>Trichoderma harzianum</i> *	-	-	-	2	-
<i>Trichoderma</i> spp.	-	1	1	-	2
Sterile fungi	-	9	4	11	7

หมายเหตุ : VA = *Vanilla albida*, VI = *V. pilifera*, VP = *V. planifolia*, VS = *V. siamensis*,

VL = *V. aphylla*

*เชื้อราที่นำมาทดสอบคุณสมบัติเป็นเชื้อราต่อต้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ หากมีข้อสงสัยหรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติม กรุณาติดต่อเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.3 (ต่อ)

เชื้อรา	VA	VI	VP	VS	VL
Ascomycotina					
<i>Chaetomella raphigera</i> *	-	2	-	4	-
<i>Emericella nidulans</i> *	2	-	-	-	-
<i>Pestalotiopsis guepinii</i>	-	-	-	1	-
<i>Phoma capitulum</i>	2	10	-	7	5
<i>Phoma nebulosa</i>	-	-	-	3	-
<i>Phoma tracheiphila</i>	-	2	-	-	-

หมายเหตุ : VA = *Vanilla albida*, VI = *V. pilifera*, VP = *V. planifolia*, VS = *V. siamensis*,

VL = *V. aphylla*

*เชื้อราที่นำมาทดสอบคุณสมบัติเป็นเชื้อราต่อต้าน

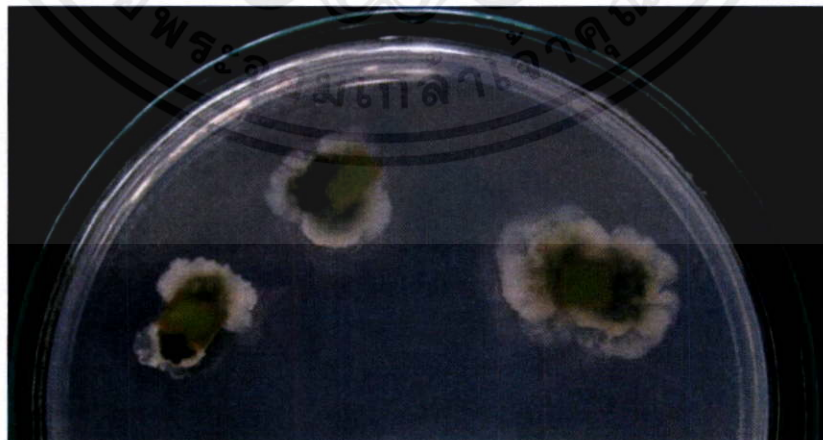
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 เชื้อรา saprophyte ที่แยกได้จากวานิลลา 5 สายพันธุ์

เชื้อรา	VA	VI	VP	VS	VL
Deuteromycotina					
<i>Acremonium</i> spp.	1	-	1	1	-
<i>Alternaria alternata</i>	2	1	-	-	2
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	-	2	-	-
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (non setae)	-	2	2	-	2
<i>Gliocladium virens</i> *	1	2	3	-	-
<i>Memmoniella echinata</i> *	2	1	-	-	1
<i>Penicillium purpurogenum</i> *	-	-	-	3	-
<i>Penicillium</i> spp.	-	2	-	-	1
<i>Syncephalastrum racemosum</i> *	1	-	-	-	-
<i>Verticillium dahliae</i> *	2	-	-	-	-
<i>Verticillium</i> spp.	-	-	2	-	-
Ascomycotina					
<i>Chaetomium bostrychodes</i> *	2	-	2	-	-
<i>Emericella nidulans</i> *	-	-	-	2	-

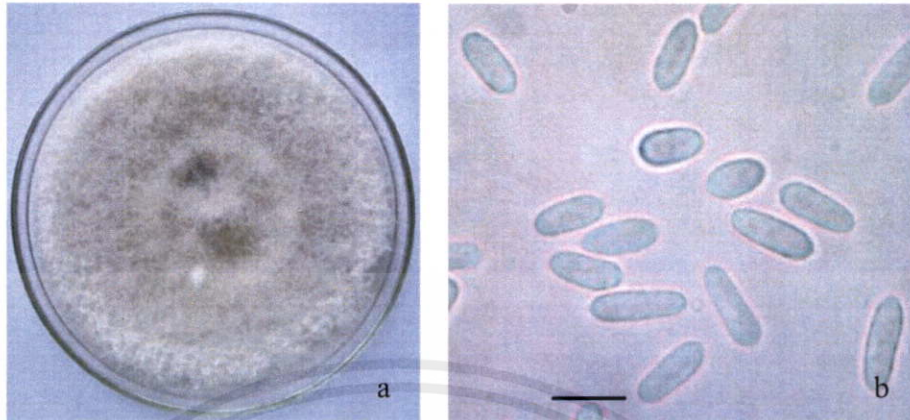
หมายเหตุ : VA = *Vanilla albida*, VI = *V. pilifera*, VP = *V. planifolia*, VS = *V. siamensis*, VL = *V. aphylla*

*เชื้อราที่นำมาทดสอบคุณสมบัติเป็นเชื้อราต่อต้าน

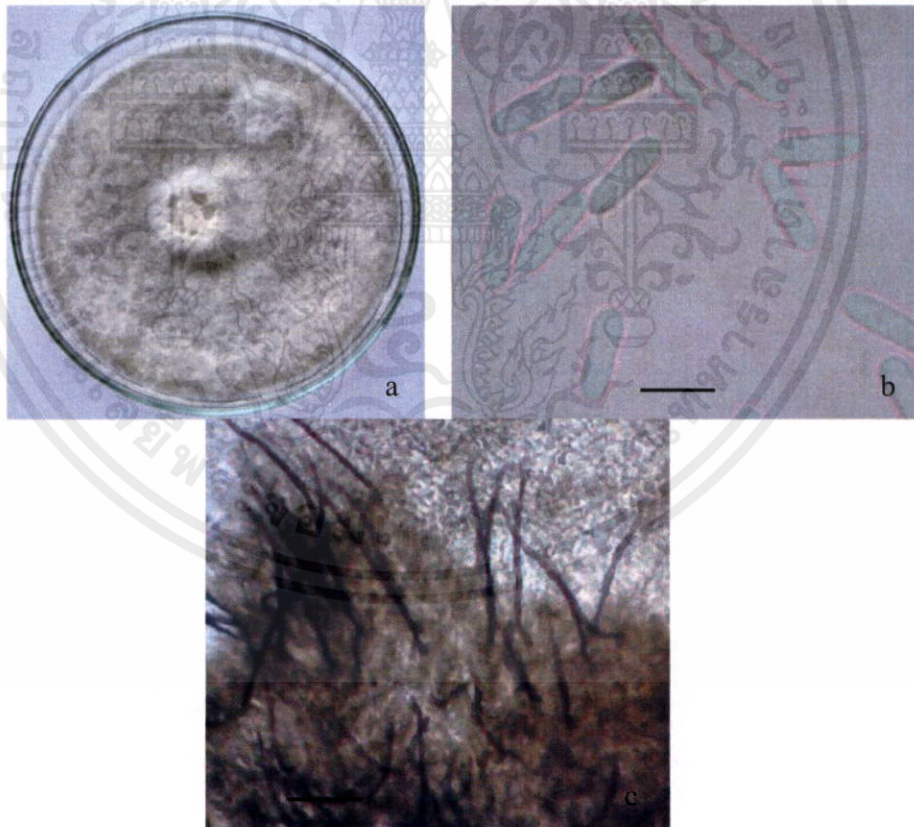


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี โดยไม่ให้นำไปใช้
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น **ภาพที่ 4.6** การเกิดเชื้อรา endophyte จากใบวานิลลา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

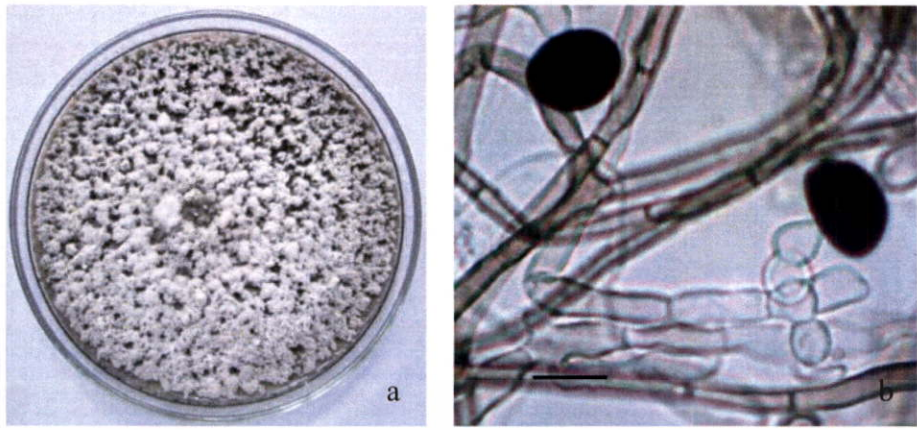
เชื้อราในกลุ่ม Deuteromycotina



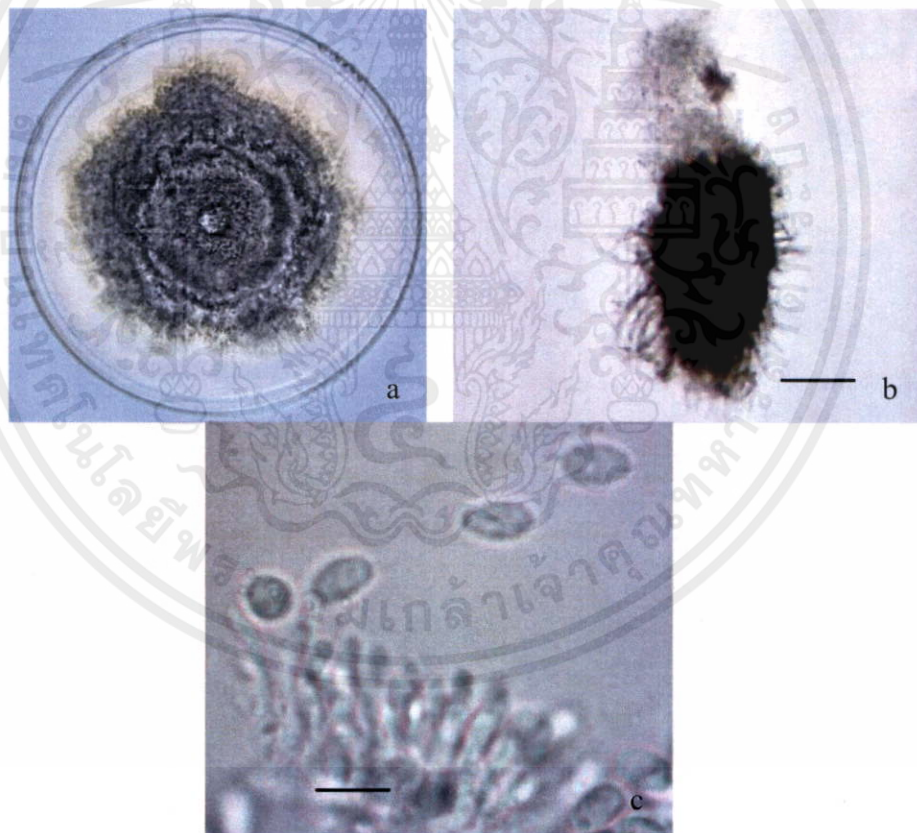
ภาพที่ 4.7 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Colletotrichum gloeosporioides* (non setae) VANL1 ของ *Vanilla albida* a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) conidia $2.9-4 \times 9.1-13.1 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



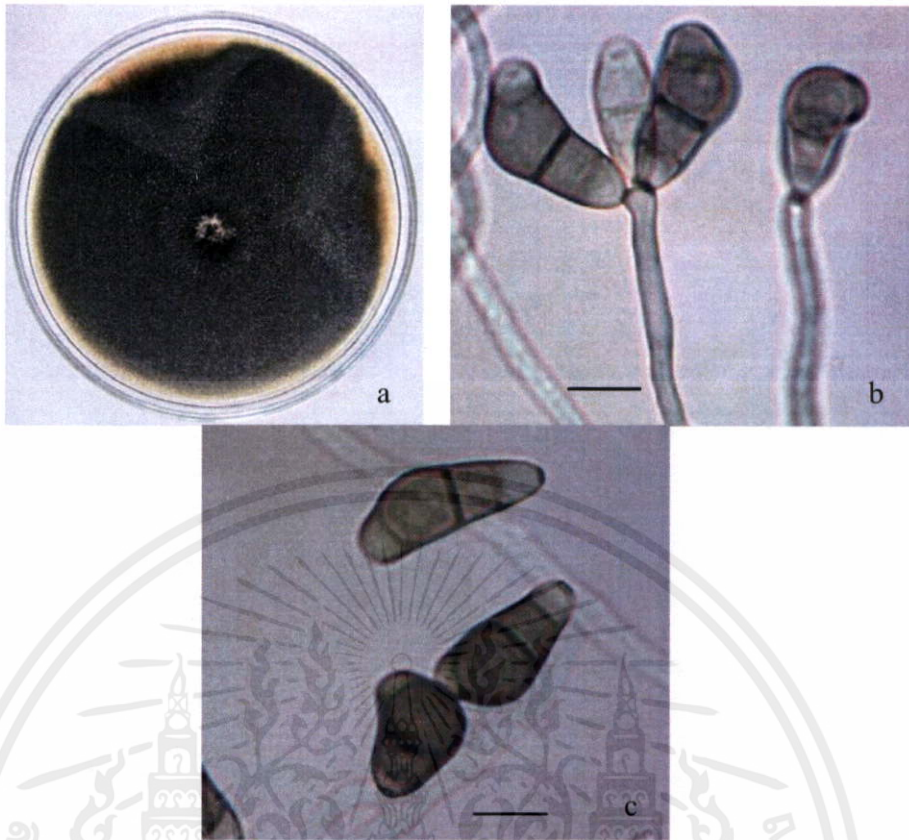
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ภาพที่ 4.8 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Colletotrichum gloeosporioides* (setae) VINS5 ของ *Vanilla pilifera* a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) conidia $4-4.9 \times 11.6-15 \mu\text{m}$ (40x) c) setae (10x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



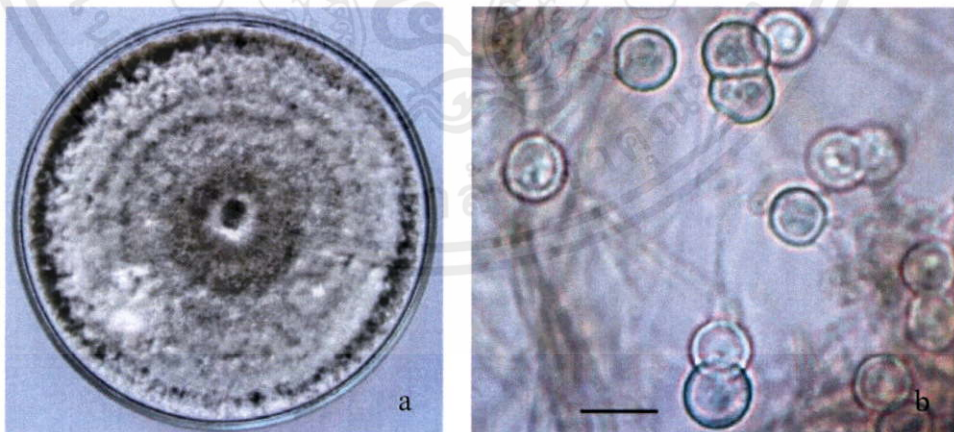
ภาพที่ 4.9 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Nigrospora sphaerica* VANS21 ของ *Vanilla albida*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 15 วัน b) conidia 7.2-12.9 x 8-13.4 μm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 μm



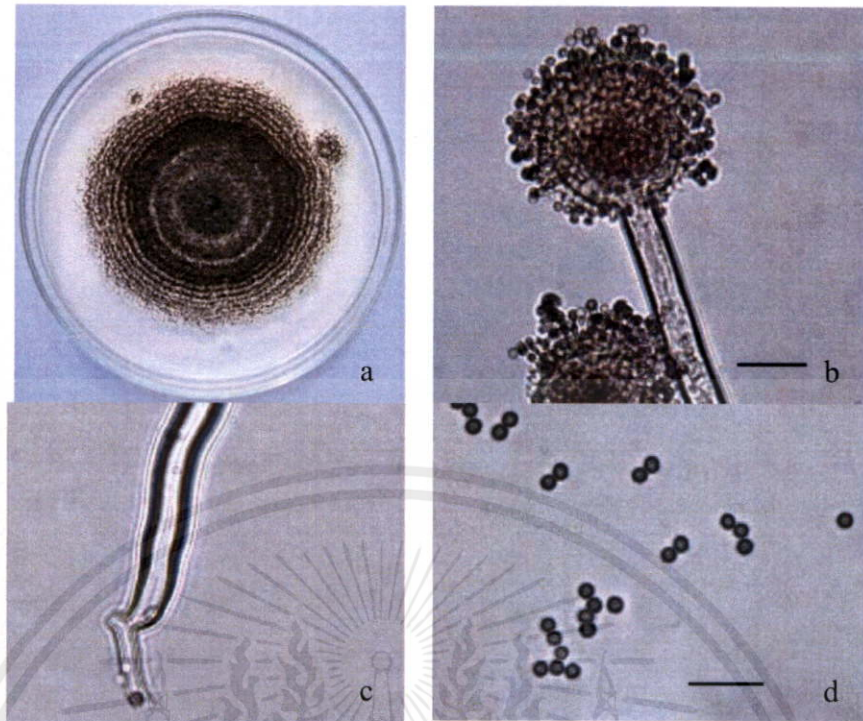
ภาพที่ 4.10 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Phyllosticta ilicicola* VLNS31 ของ *Vanilla aphylla*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 30 วัน b) pycnidia 163.4-351.7 x 322.3-927.1 μm (4x) c) conidia 4.3-5.3 x 9.3-10.2 μm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 μm



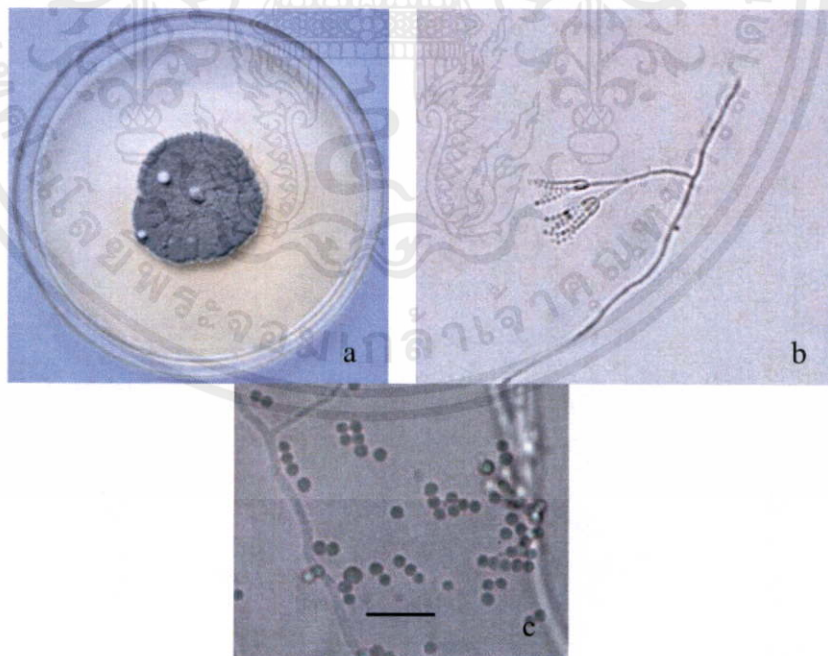
ภาพที่ 4.11 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Curvularia lunata* VPNR5 ของ *Vanilla planifolia*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของ
 เชื้อรา c) conidia $9.1-11.7 \times 19.1-28.4 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



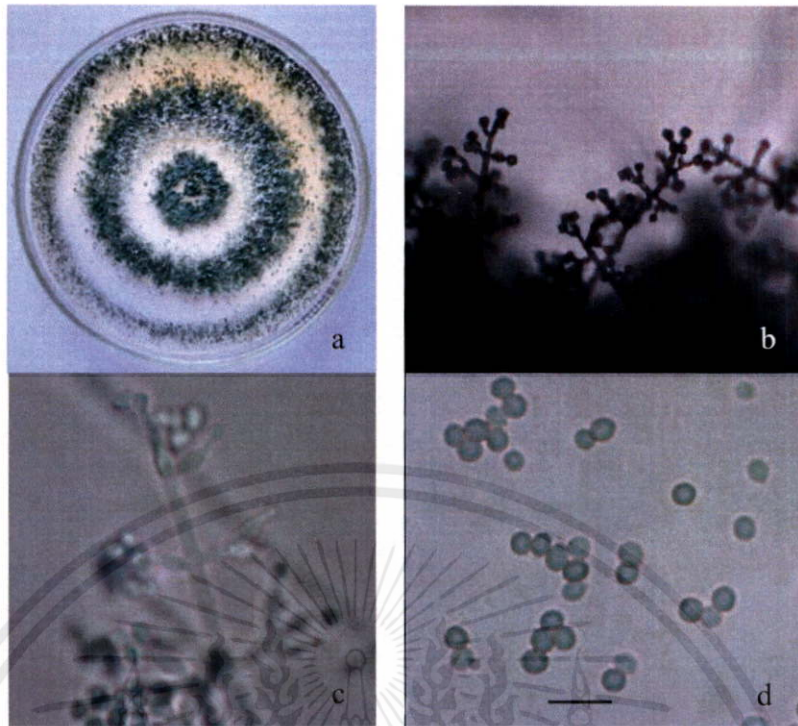
ภาพที่ 4.12 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Gongonella* spp. VSNR4 ของ *Vanilla siamensis*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 15 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของ
 เชื้อรา (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



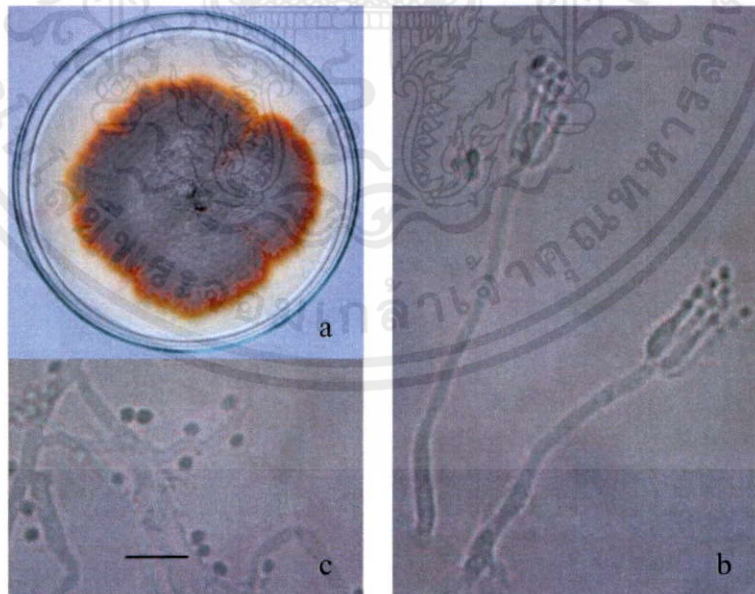
ภาพที่ 4.13 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Aspergillus niger* VAE12 ของ *Vanilla albida* a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) head 23.2-34.3 x 24.9-36.8 μm (10x) c) foot cell d) conidia 2.9-3.2 x 3.1-3.4 μm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 μm



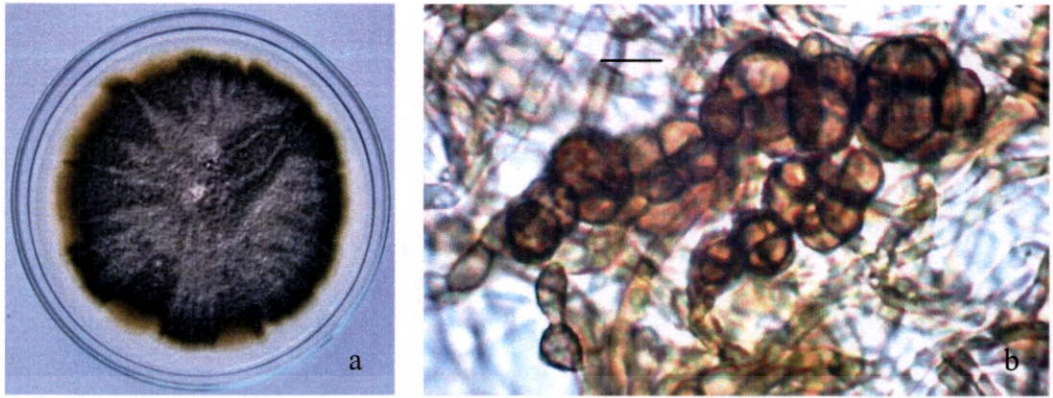
ภาพที่ 4.14 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Penicillium atrovirens* VAE5 ของ *Vanilla albida* a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 30 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา (10x) c) conidia 1.4-2.2 x 1.6-2.7 μm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 μm



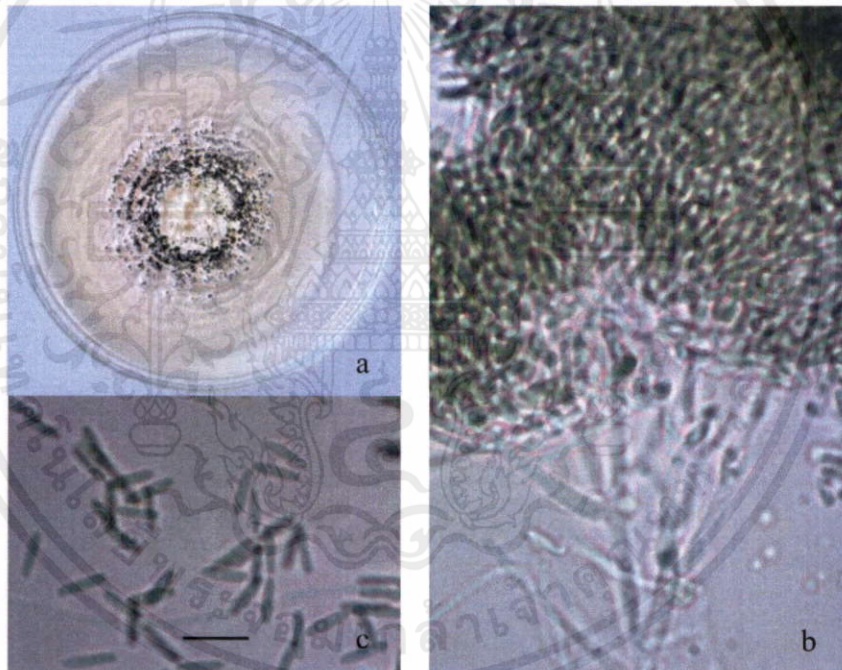
ภาพที่ 4.15 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Trichoderma harzianum* VIEL3 ของ *Vanilla plicifera*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 15 วัน b) และ c) ลักษณะของเชื้อรา (40x) d) conidia 3-3.5 x 3.4-4.3 µm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm



ภาพที่ 4.16 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Penicillium frequentans* VIES10 ของ *Vanilla plicifera*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 18 วัน b) ลักษณะของเชื้อรา (40x)
 c) conidia 2-3 x 2.7-2.9 µm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm

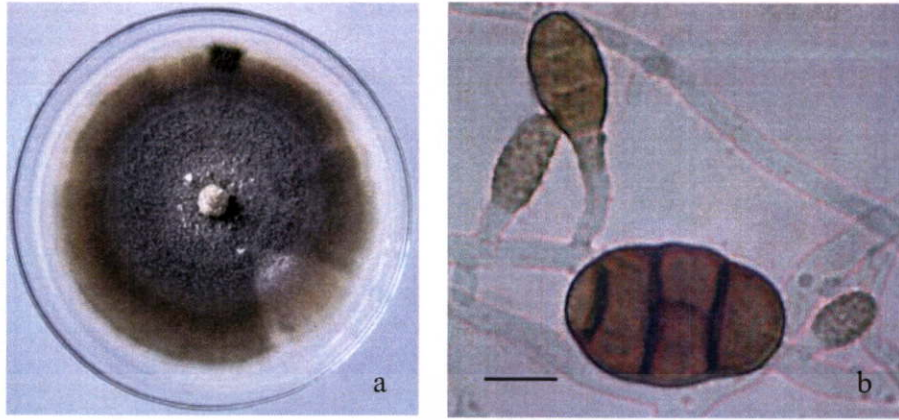


ภาพที่ 4.17 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Papulaspora immerse* VPER9 ของ *Vanilla planifolia*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm

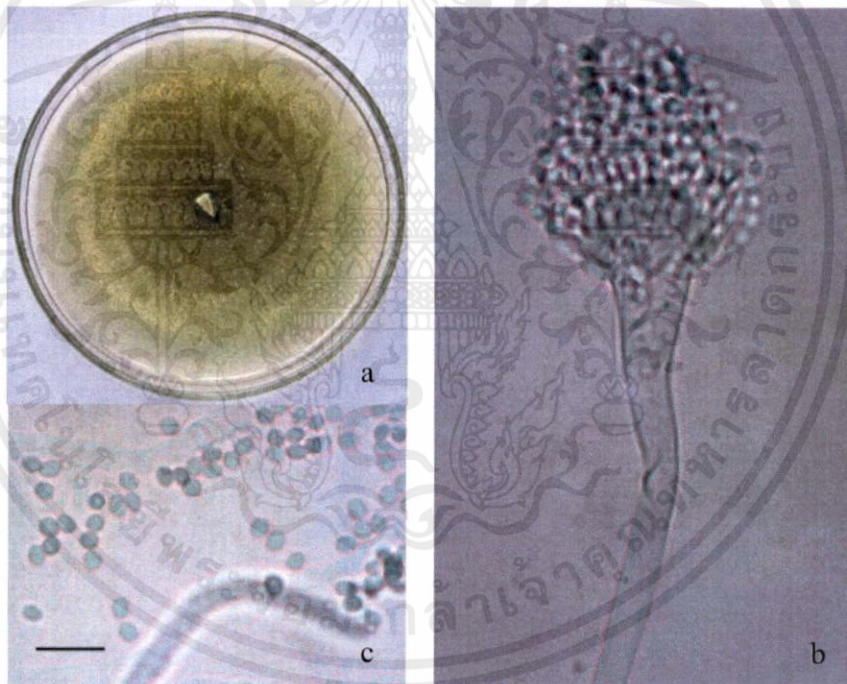


ภาพที่ 4.18 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Myrothecium roridum* VPES15 ของ *Vanilla planifolia*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) ลักษณะของเชื้อรา (40x)
 c) conidia 1.4-1.8 x 5.5-6.8 µm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

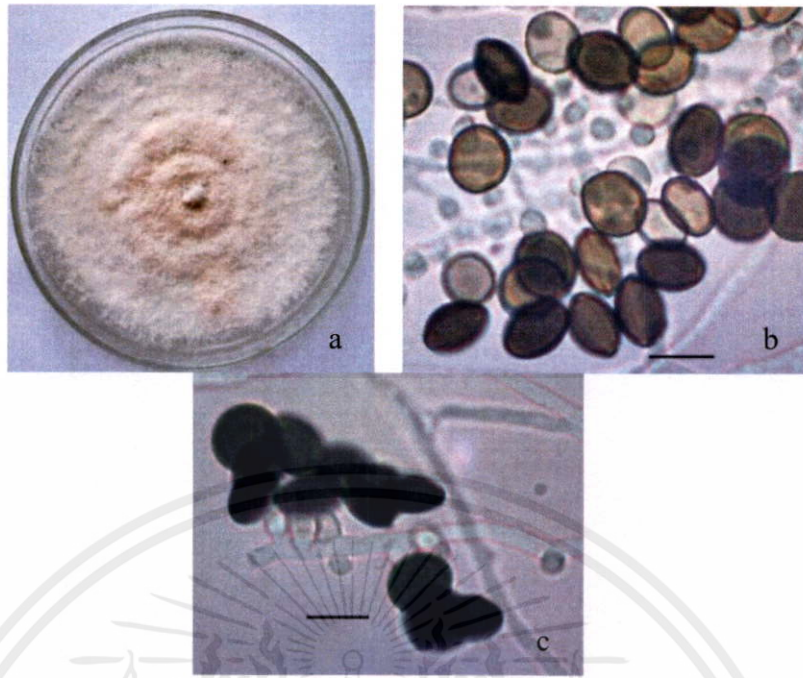


ภาพที่ 4.19 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Pithomyces* spp. VLER17 ของ *Vanilla aphylla*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา และ conidia $5.2-9.0 \times 9.5-16.7 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



ภาพที่ 4.20 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Aspergillus funigatus* VPES18 ของ *Vanilla planifolia*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา (10x) c) conidia $2-2.3 \times 1.7-2 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$

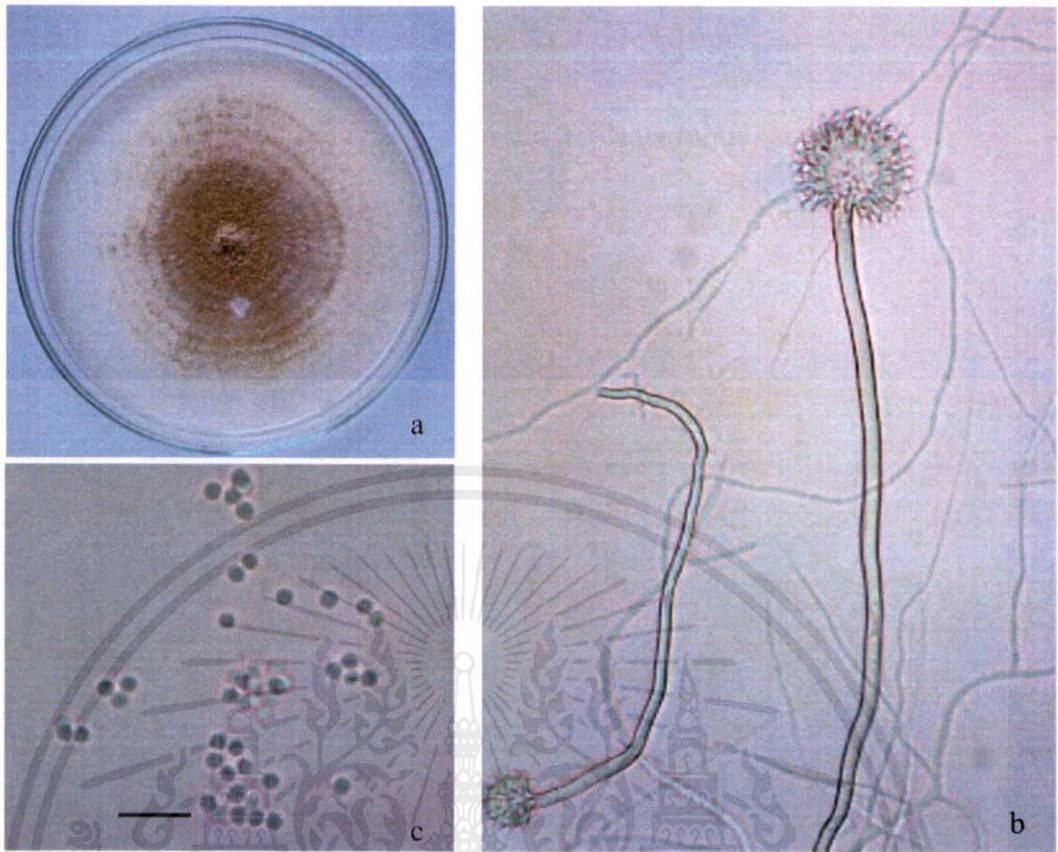
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.21 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Apiospora montagnei* VSEL12 ของ *Vanilla siamensis*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 20 วัน b) และ c) ลักษณะโครงสร้าง
 ของเชื้อรา และ conidia $6.7-10.8 \times 8.3-11.9 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$

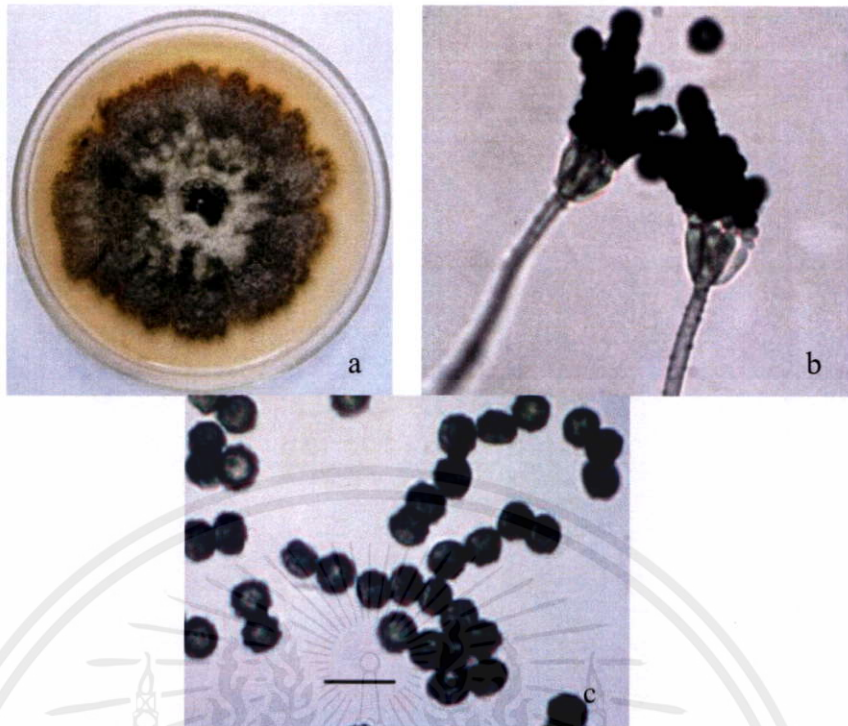


ภาพที่ 4.22 ลักษณะของเชื้อรา saprophyte *Syncephalastrum racemosum* VASL3 ของ *Vanilla albida*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) vesicle with young
 merosporegia $11.5-18.9 \times 12.3-19.5 \mu\text{m}$ (40x) c) merospores $1.7-3.5 \times 2.6-4.1 \mu\text{m}$
 (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



ภาพที่ 4.23 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Aspergillus terreus* VSES20 ของ *Vanilla siamensis*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 15 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา (10x) c) conidia 2.2-2.4 x 2.3-3.2 μm d) foot cell (40x) Scale bar เท่ากับ 10 μm

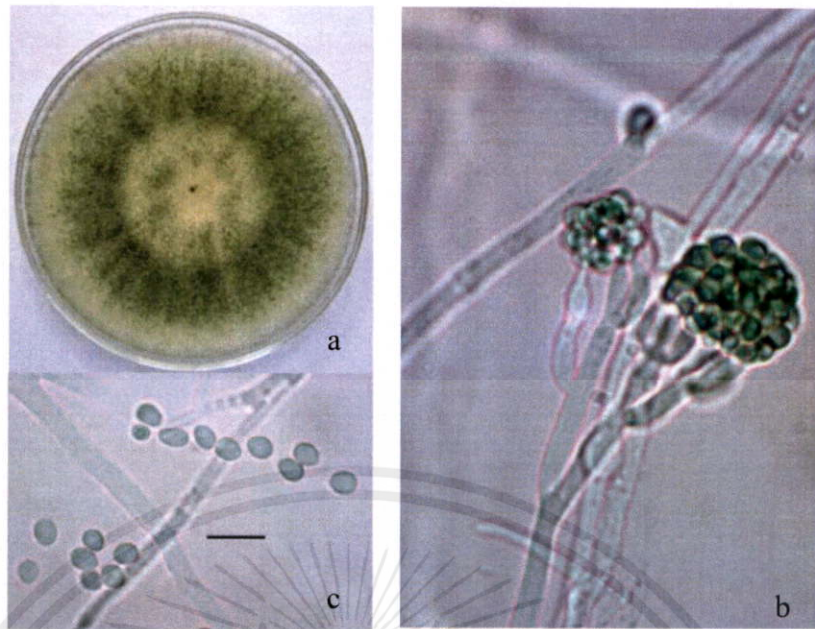
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



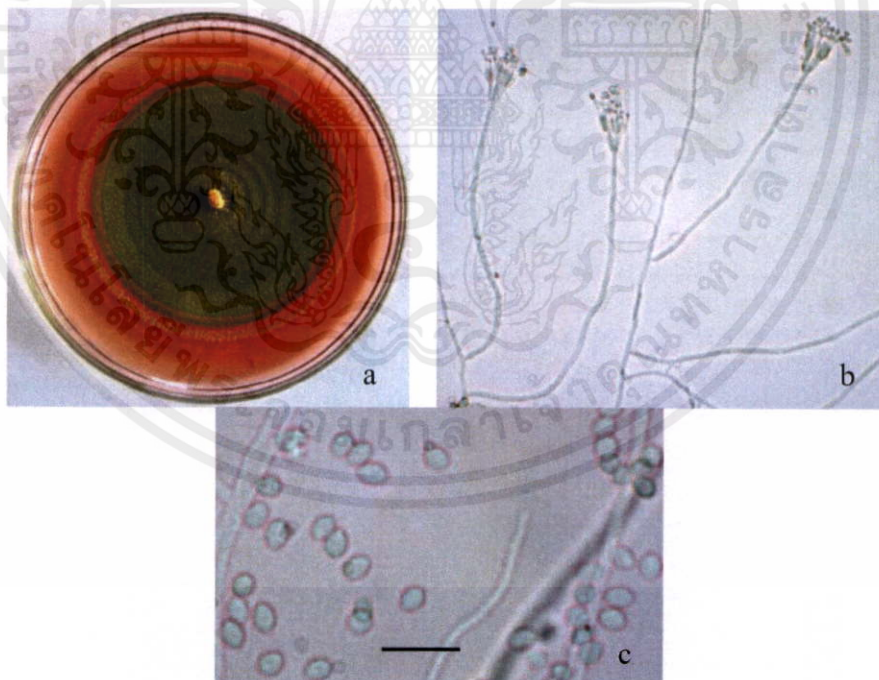
ภาพที่ 4.24 ลักษณะของเชื้อรา saprophyte *Memmoniella echinata* VASL6 ของ *Vanilla albida*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 40 วัน b) ลักษณะของเชื้อรา (10x)
 c) conidia 3.2-3.8 x 3.3-4.2 µm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ภาพที่ 4.25 ลักษณะของเชื้อรา saprophyte *Verticillium dahliae* VASS1 ของ *Vanilla albida*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 30 วัน b) ลักษณะของเชื้อรา (10x)
 c) conidia 2.1-2.8 x 4.5-7.3 µm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm



ภาพที่ 4.26 ลักษณะของเชื้อรา saprophyte *Gliocladium virens* VISL1 ของ *Vanilla pilifera*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 16 วัน b) ลักษณะของเชื้อรา (40x)
 c) conidia 3.3-4.0 x 4.2-5.1 µm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm



ภาพที่ 4.27 ลักษณะของเชื้อรา saprophyte *Penicillium purpurogenum* VSSL6 ของ *Vanilla siamensis* a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) ลักษณะของโครงสร้างของเชื้อรา (10x) c) conidia 2.0-3.3 x 3.3-4.5 µm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm



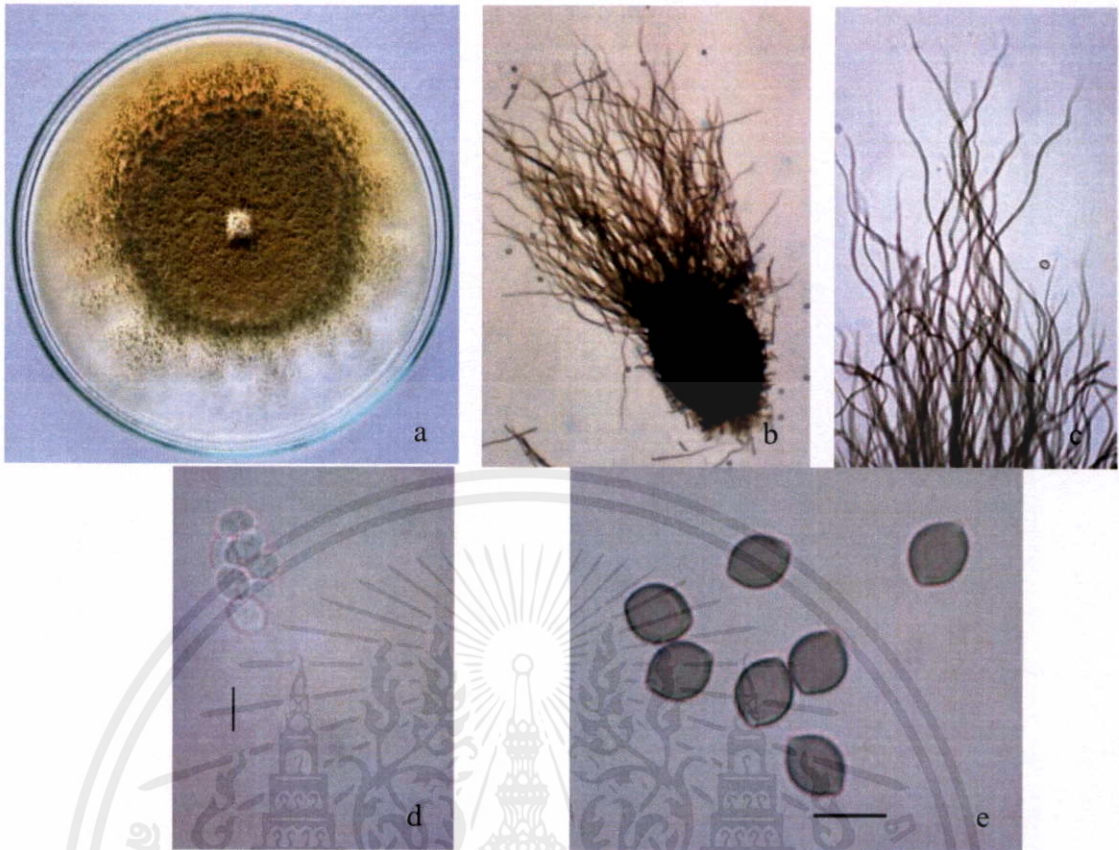
ภาพที่ 4.28 ลักษณะของเชื้อรา saprophyte *Alternaria alternata* VLSS1 ของ *Vanilla aphylla*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 20 วัน b) ลักษณะของโครงสร้างของ
 เชื้อรา $6.2-16.1 \times 10.3-56.6 \mu\text{m}$ c) mycelium $3.3-4.8 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$

เชื้อราในกลุ่ม Ascomycete

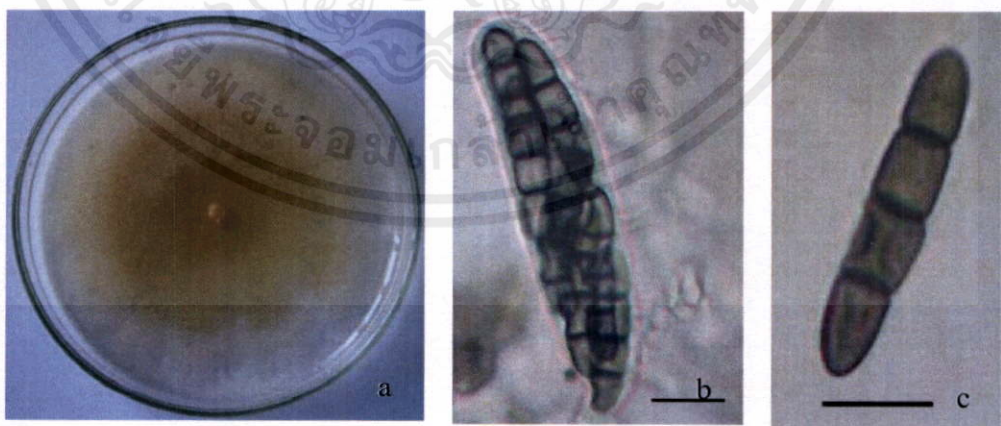


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

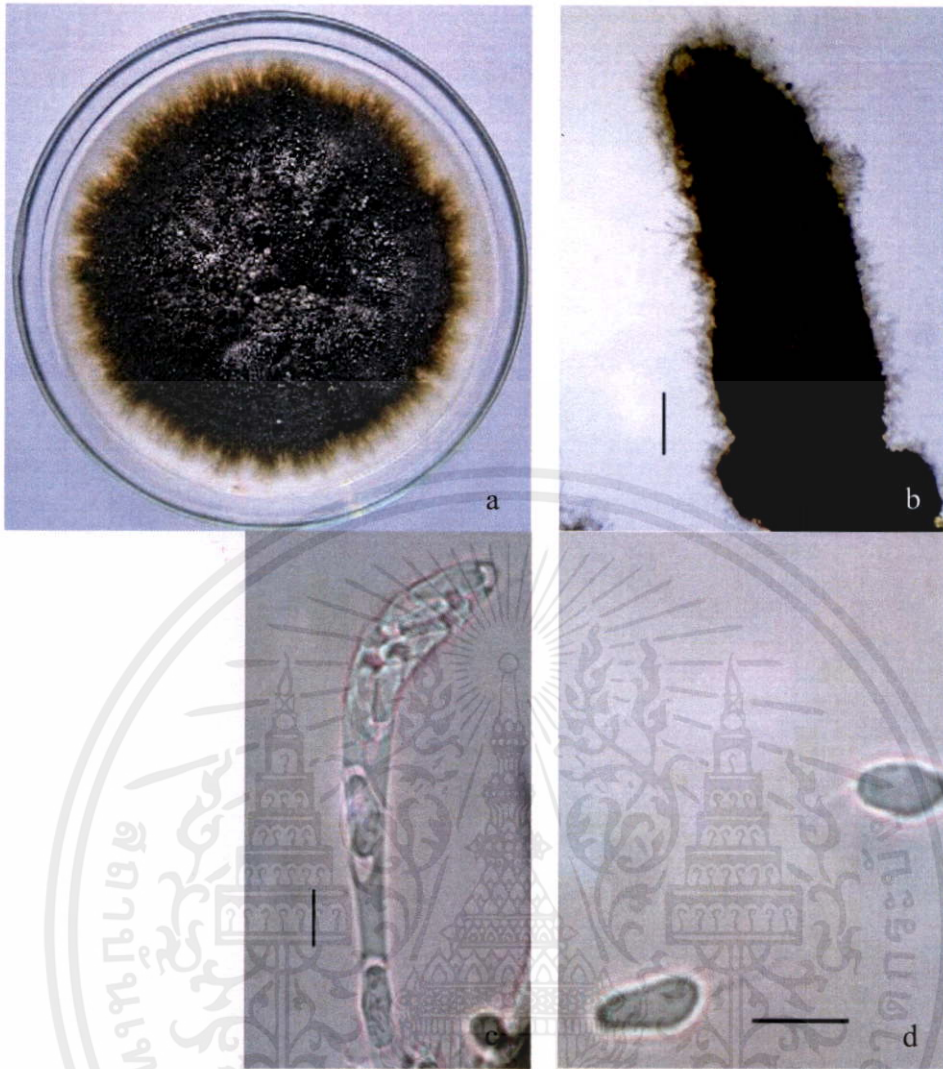
ภาพที่ 4.29 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Xylaria* spp. VANR8 ของ *Vanilla albida* a) ลักษณะ
 ของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 35 วัน



ภาพที่ 4.30 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Chaetomium cocchoioides* VINR4 ของ *Vanilla ptilifera*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 13 วัน b) ascomata c) hair d) ascus
 $12.0-15.3 \times 44.7-55.8 \mu\text{m}$ (40x) e) ascospore $6.3-8.0 \times 8.7-10.3 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar
 เท่ากับ $10 \mu\text{m}$

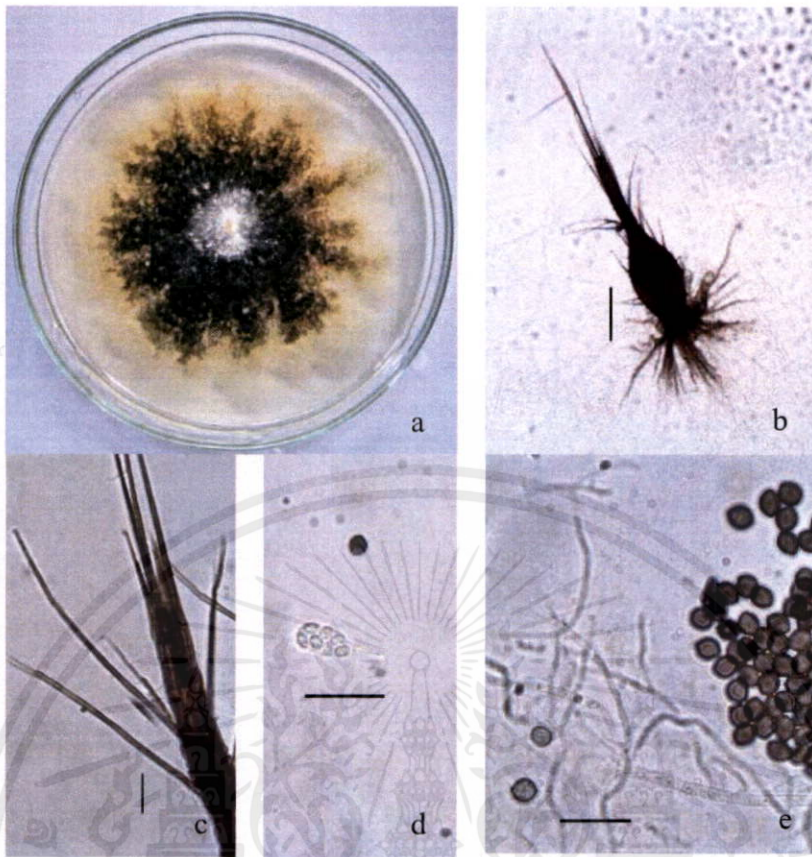


ภาพที่ 4.31 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Leptosphaeria* spp. VINR8 ของ *Vanilla ptilifera*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 18 วัน b) ascus $11.4-15.7 \times 52.8-31.1 \mu\text{m}$ (40x)
 c) ascospore $5.1-6.5 \times 25.7-32.1 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



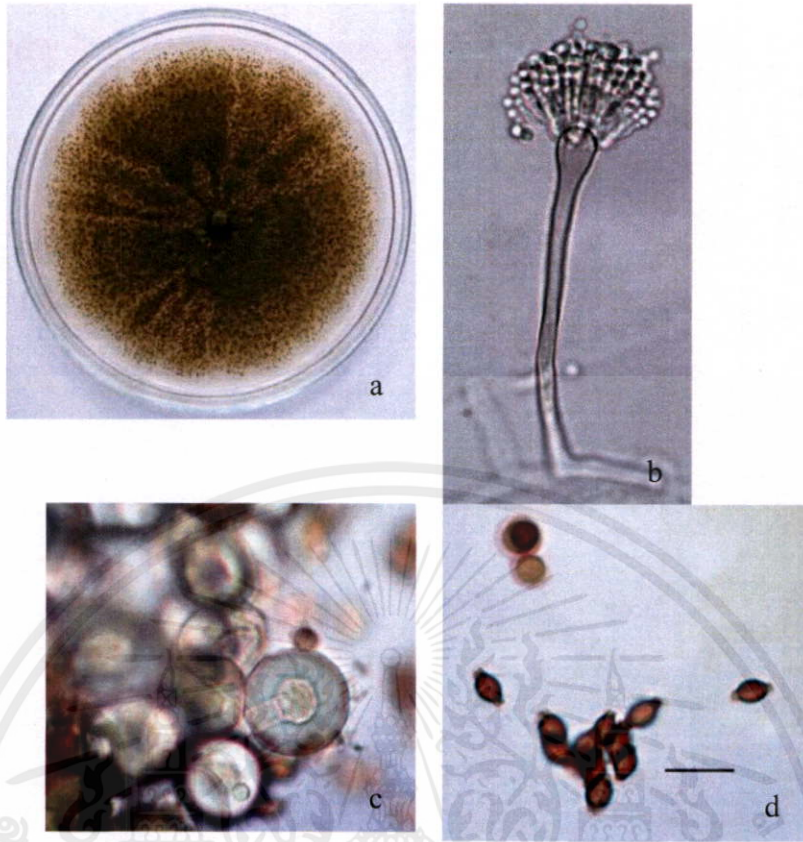
ภาพที่ 4.32 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Guignardia* spp. VLNS32 ของ *Vanilla aphylla*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 30 วัน b) pycnidia 172.2-215.6 x
 200-504.8 µm (4x) Scale bar เท่ากับ 100 µm c) ascus 10.4-14.3 x 62.4-94.7 µm
 (40x) d) conidia 4.9-6.0 x 12.3-15.1 µm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 µm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

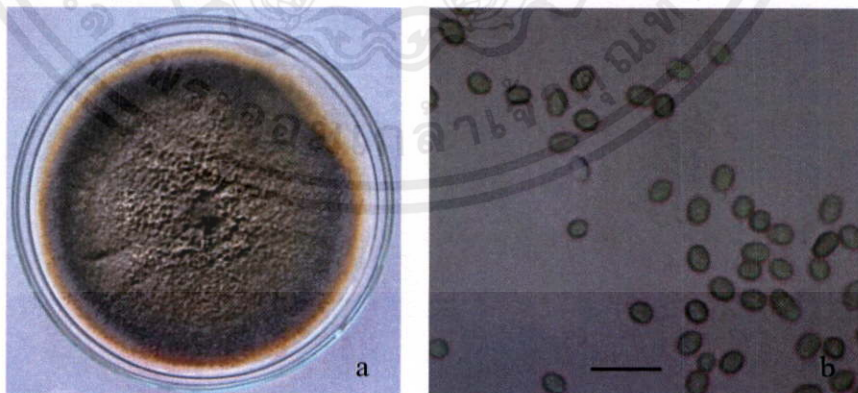


ภาพที่ 4.33 ลักษณะของเชื้อรา endophyte *Chaetomium malaysiense* VPNL30 ของ *Vanilla planifolia* a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 25 วัน b) ascomata 37.7-47.0 x 58.7-73.2 μm (10x) Scale bar เท่ากับ 50 μm c) ascomatal hairs (40x) d) ascus 3.5-6.2 x 10.8-16.7 μm (40x) e) ascospores 4.3-5.2 x 5.3-6.4 μm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 μm

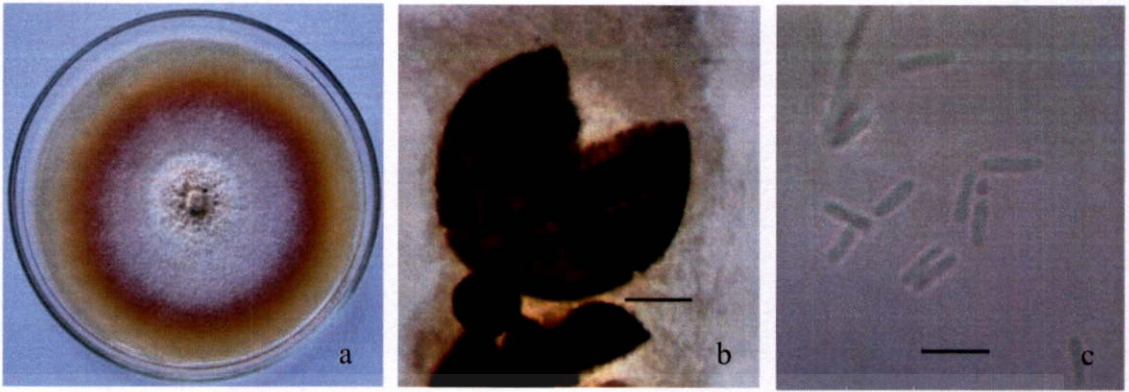
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



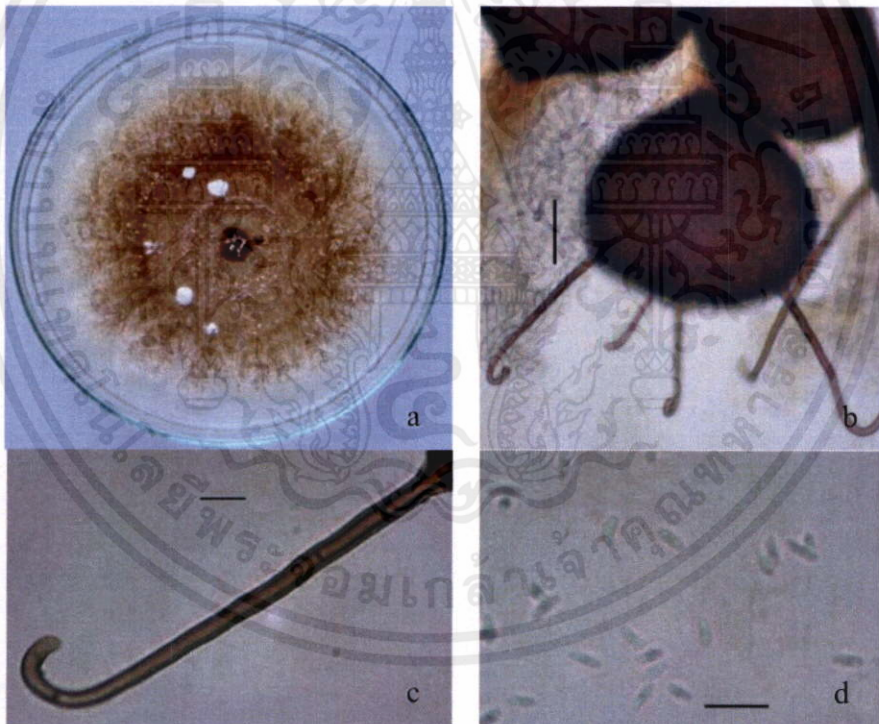
ภาพที่ 4.34 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Emericella nidulans* VAE6 ของ *Vanilla albida*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของ
 เชื้อรา ในระยะ imperfect stage c) Hülle cell d) conidia $1.4-2.2 \times 1.6-2.7 \mu\text{m}$ (40x)
 Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต
 ภาพที่ 4.35 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Phoma capitulum* VAES5 ของ *Vanilla albida*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) conidia $2.4-3 \times 3.3-4.3 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$

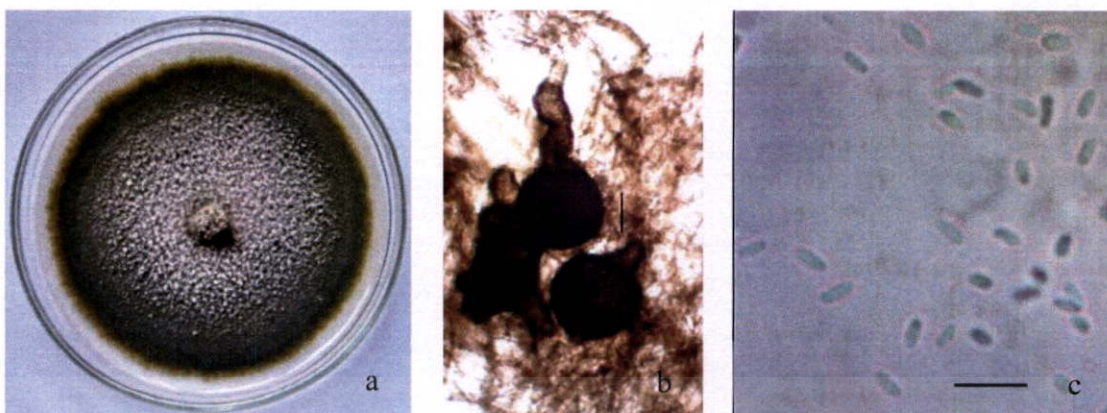


ภาพที่ 4.36 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Phoma tracheiphila* VIEL10 ของ *Vanilla pilifera*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน b) perithecium 313.8-371.4 x
 314.2-394.7 μm (4x) Scale bar เท่ากับ 100 μm c) conidia 1.6-2.1 x 6.8-8.8 μm (40x)
 Scale bar เท่ากับ 10 μm

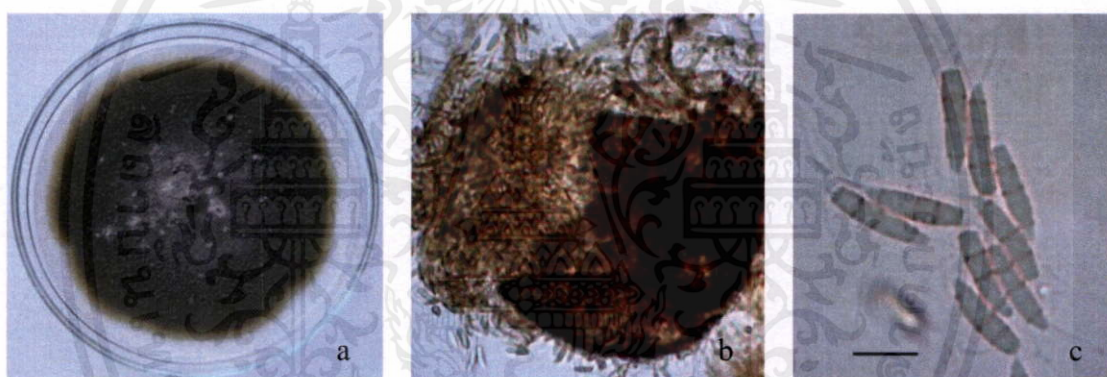


ภาพที่ 4.37 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Chaetomella raphigera* VIER21 ของ *Vanilla pilifera*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 16 วัน b) perithecium 107.8-191.4 x
 127.3-210.8 μm (4x) Scale bar เท่ากับ 100 μm c) hair 3.9-4.9 x 87.6-105.8 μm (40x)
 d) conidia 1.3-2 x 4.3-5.1 μm (40x) Scale bar เท่ากับ 10 μm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีทรัพย์สินทางปัญญาและเครื่องหมายการค้าของเจ้าของทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.38 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Phoma nebulosa* VSEL23 ของ *Vanilla siamensis*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 15 วัน b) โครงสร้างของเชื้อรา
 (10x) c) conidia $0.9-2.1 \times 3.9-6.7 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$



ภาพที่ 4.39 ลักษณะของเชื้อรา epiphyte *Pestalotiopsis guepinii* VSES10 ของ *Vanilla siamensis*
 a) ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 15 วัน b) ลักษณะโครงสร้างของ
 เชื้อรา (4x) c) conidia $3.5-4.1 \times 17.6-20.2 \mu\text{m}$ (40x) Scale bar เท่ากับ $10 \mu\text{m}$

4.3 การศึกษาเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสของวานิลาและทดสอบความสามารถในการเกิดโรค

จากการแยกเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนสของวานิลา 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia* และ *V. siamensis* พบว่าเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งแยกได้จากใบ *V. albida* จำนวน 8 ไอโซเลท คือ VA1, VA2, VA3, VA4, VA5, VA6, VA7 และ VA8 แยกจากใบ *V. pilifera* ได้ 6 ไอโซเลท คือ VI1, VI2, VI3, VI4, VI5 และ VI6 ส่วน *V. planifolia* แยกได้จากใบจำนวน 8 ไอโซเลท คือ VP1, VP2, VP3, VP4, VP5, VP6, VP7

และ VP8 และ แยกได้จากใบ *V. siamensis* จำนวน 6 ไอโซเลท คือ VS1, VS2, VS3, VS4, VS5 และ VS6 แสดงรายละเอียดต่อไปนี้

เชื้อราสาเหตุที่แยกได้จากใบ *V. albida* จำนวน 8 ไอโซเลท

Colletotrichum gloeosporioides VA1

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะ โคลนึบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $3.25-4 \times 10.5-15.2 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VA2

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะ โคลนึบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเทาดำ สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $3.6-4.8 \times 14.4-15.6 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass และ setae ไม่พบการสร้าง sclerotium และ chlamyospore

Colletotrichum gloeosporioides VA3

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะ โคลนึบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $2.4-3.5 \times 12.0-16.7 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VA4

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะ โคลนึบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $3.2-5 \times 11.5-15 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VA5

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะ โคลนึบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส

ไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ $2.5-3.7 \times 12-16.7 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VA6

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ $2.8-5 \times 11-15.5 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VA7

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ $3-4.5 \times 10.5-15.2 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VA8

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาว เมื่อแก่มีสีเทา น้ำตาล สร้างเส้นใยฟู เล็กน้อย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ $2.9-3.4 \times 11.1-16.7 \mu\text{m}$ ไม่พบการสร้าง conidia mass sclerotium, chlamyospore และ setae (ภาพที่ 4.40)

เชื้อราสาเหตุที่แยกได้จากใบ *V. pilifera* จำนวน 6 ไอโซเลต

Colletotrichum gloeosporioides VII

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ $3.6-4.8 \times 12.0-15.6 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae (ภาพที่ 4.41)

Colletotrichum gloeosporioides VI2

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาว เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ

cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ 3.6-7.2 x 10.8-14.4 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamydo-spore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VI3

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเทา สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ 4.8-6.0 x 14.4-16.8 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamydo-spore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VI4

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ 3.6-4.8 x 14.4-19.2 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamydo-spore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VI5

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ 3.6-7.2 x 10.8-16.8 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamydo-spore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VI6

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี มีเซลล์เดียว ขนาดประมาณ 3.6-4.8 x 12.0-15.8 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamydo-spore และ setae

เชื้อราสาเหตุที่แยกได้จากใบ *V. planifolia* จำนวน 8 ไอโซเลต

Colletotrichum gloeosporioides VP1

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส

ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $2.9-3.4 \times 10.7-18.3 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VP2

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาว สร้างเส้นใยฟู มีลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน สีไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $3.6-4.8 \times 10.8-16.8 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VP3

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาว สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน สีไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $3.6-6.0 \times 12.0-18.3 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VP4

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเทาดำ เส้นใยเจริญแบนราบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน สีไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $2.4-3.6 \times 9.6-15.8 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VP5

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน สีไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $2.9-5.5 \times 11.0-18.3 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VP6

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาว สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน สีไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ $2.7-5.4 \times 11.0-15.6 \mu\text{m}$ พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VP7

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 2.9-5.5 x 12.0-16.8 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamydospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VP8

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 2.4-4.8 x 12.0-18.4 μm ไม่พบการสร้าง conidia mass, sclerotium, chlamydospore และ setae (ภาพที่ 4.42)

เชื้อราสาเหตุที่แยกได้จากใบ *V. siamensis* จำนวน 6 ไอโซเลต

Colletotrichum gloeosporioides VS1

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 2.9-3.4 x 10.7-18.3 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamydospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VS2

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 3.6-6.0 x 12.0-16.8 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamydospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VS3

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 2.4-4.8 x 12.0-16.5 μm ไม่พบการสร้าง conidia mass, sclerotium, chlamydospore และ setae (ภาพที่ 4.43)

Colletotrichum gloeosporioides VS4

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา เมื่อแก่มีสีเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟู มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 2.8-3.4 x 8.6-18.3 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VS5

รายละเอียดของเชื้อรา

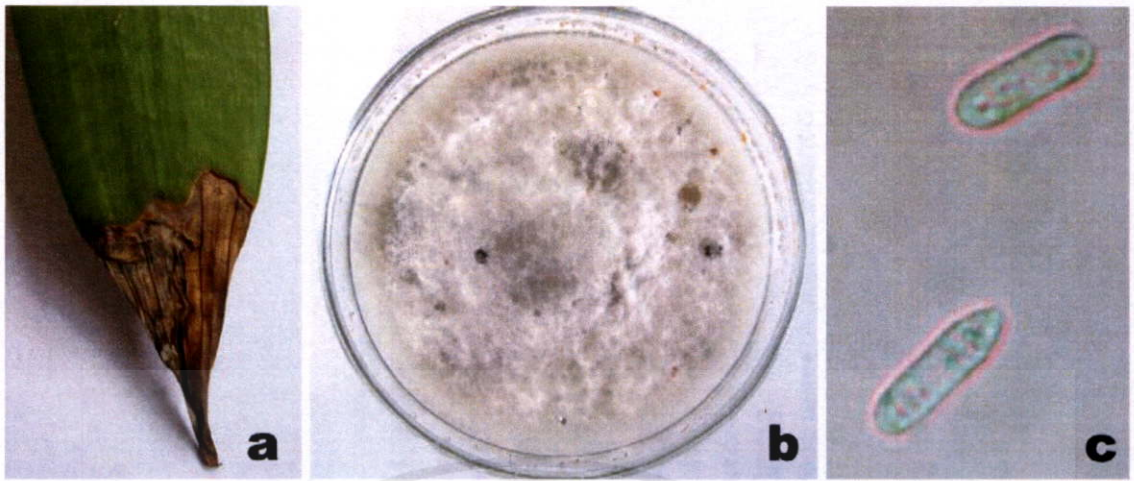
ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาว สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 3.6-4.8 x 11.0-14.5 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

Colletotrichum gloeosporioides VS6

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวเทา สร้างเส้นใยฟู ลักษณะหยาบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี มีเซลล์เดี่ยว ขนาดประมาณ 3.0-4.5 x 10.5-16.8 μm พบการสร้าง conidia mass ไม่พบการสร้าง sclerotium, chlamyospore และ setae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

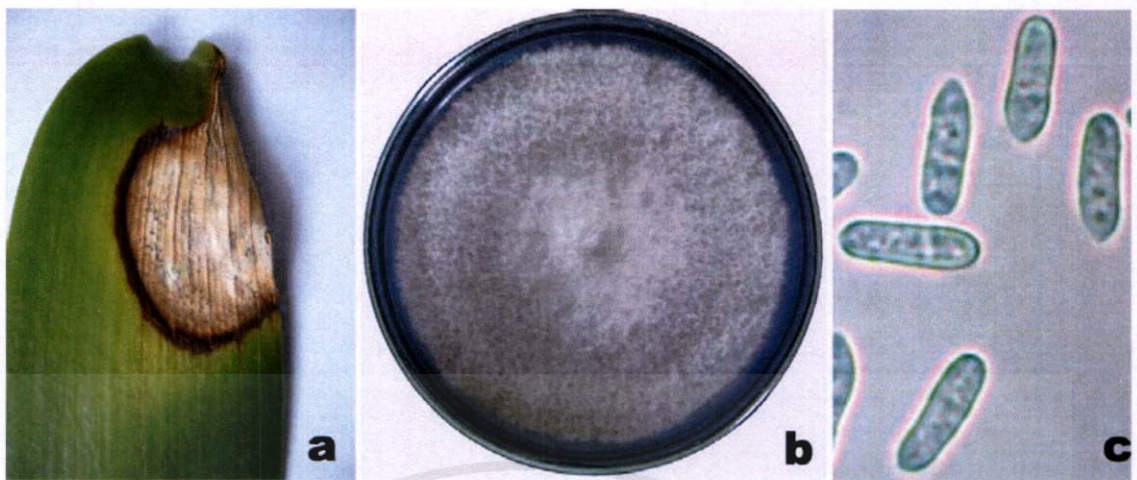


ภาพที่ 4.40 ลักษณะอาการแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 (a) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน (b) ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา (40x) (c)



ภาพที่ 4.41 ลักษณะอาการแอนแทรคโนสของ *Vanilla pilifera* ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VII (a) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน (b) ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา (40x) (c)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.42 ลักษณะอาการแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia* ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 (a) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน (b) ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา (40x) (c)



ภาพที่ 4.43 ลักษณะอาการแอนแทรกโนสของ *Vanilla siamensis* ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 (a) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน (b) ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา (40x) (c)

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนสของวานิลาแต่ละสายพันธุ์ที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยวิธี detached leaf (การทดสอบกับใบ) เป็นเวลา 15 วัน พบว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลบนใบ *V. albida* ที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับ control โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 12.00 มิลลิเมตร รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท VA3, VA5 และ VA4 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบ

กับ control ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 8.50, 8.00 และ 7.75 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่าไอโซเลท VA6, VA1, VA7 และ VA2 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ตารางที่ 4.5 ภาพที่ 4.44)

สำหรับการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนสบนใบ *V. pilifera* โดยเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 6 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท VII มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับ control โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 13.00 มิลลิเมตร รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท VI3, VI5 และ VI2 ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 9.75, 9.25 และ 8.75 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ ไอโซเลท VI4 และ VI6 พบว่า ความสามารถในการทำให้เกิดโรคน้อยที่สุดซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ตารางที่ 4.5 ภาพที่ 4.44)

ในการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบ *V. planifolia* ด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 8 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท VP8 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับ control โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 10.25 มิลลิเมตร รองลงมาได้แก่ VP5 และ VP4 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 7.75 และ 7.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ ไอโซเลท VP1, VP2, VP3, VP6 และ VP7 พบว่า มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ตารางที่ 4.5 ภาพที่ 4.45)

และการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบ *V. siamensis* ด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 6 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท VS3 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 13.75 มิลลิเมตร รองลงมาคือ ไอโซเลท VS1, VS2, VS4, VS5 และ VS6 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 6.25, 8.25, 5.25, 6.50 และ 7.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5 ภาพที่ 4.45)

จากการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรค *C. gloeosporioides* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดบนใบวานิลาแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ ไอโซเลท VA8, VII, VP8 และ VS3 หลังจากนั้นจะนำเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 4 ไอโซเลทที่ได้นี้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

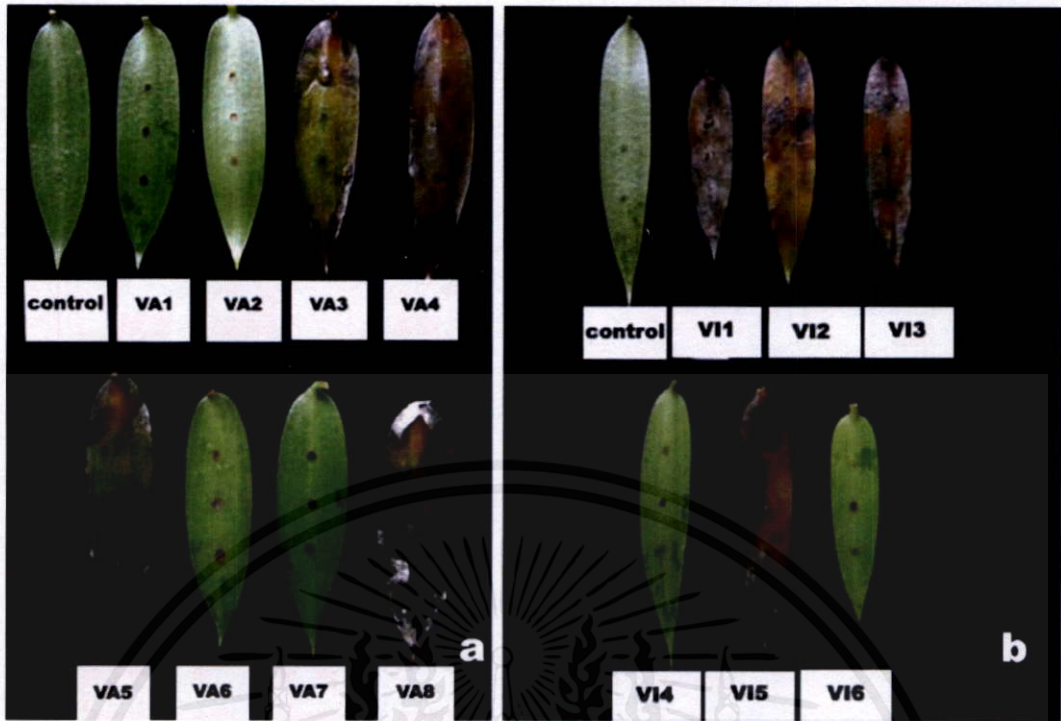
ตารางที่ 4.5 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลในการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลตต่างๆ โดยวิธี detached leaf เป็นเวลา 15 วัน

Isolates	Lesion (mm.)	Isolates	Lesion (mm.)	Isolates	Lesion (mm.)	Isolates	Lesion (mm.)
VA1	5.25c ¹⁾	VI1	13.00a	VP1	5.25c	VS1	6.25bcd
VA2	5.00c	VI2	8.75b	VP2	5.75c	VS2	8.25b
VA3	8.50b	VI3	9.75b	VP3	5.00c	VS3	13.75a
VA4	7.75b	VI4	5.25c	VP4	7.50b	VS4	5.25cd
VA5	8.00b	VI5	9.25b	VP5	7.75b	VS5	6.50bcd
VA6	5.75c	VI6	5.25c	VP6	5.00c	VS6	7.25bc
VA7	5.25c			VP7	5.25c		
VA8	12.00a			VP8	10.25a		
CV. (%)	8.03		10.95		9.33		13.63

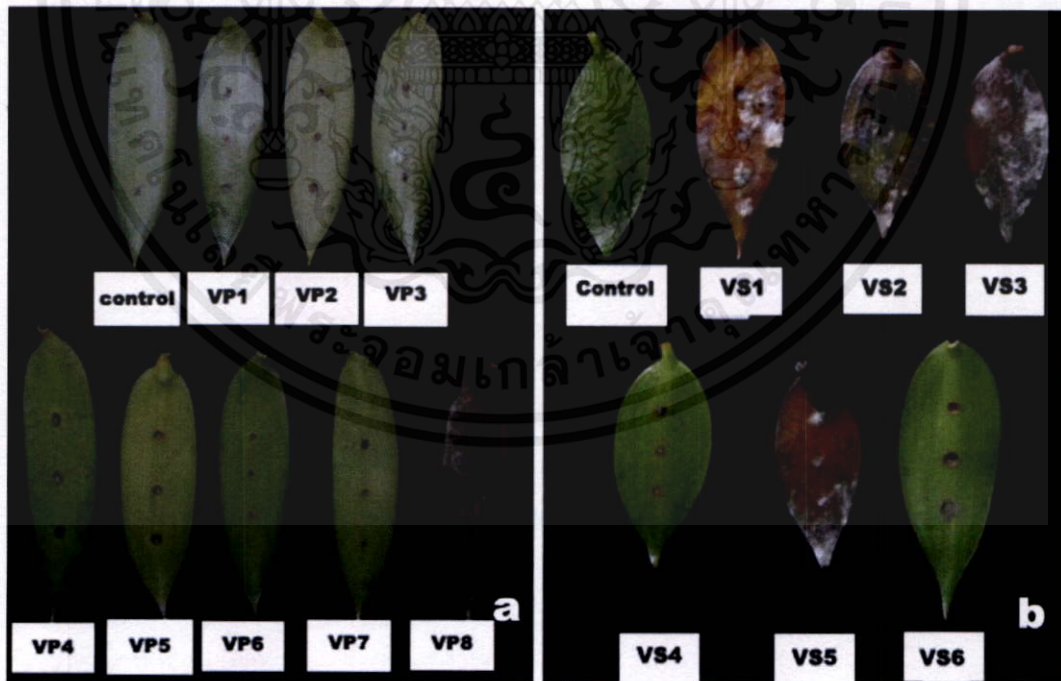
¹⁾ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

Note: VA = *Vanilla albida*, VI = *Vanilla pilifera*, VP = *Vanilla planifolia* and VS = *Vanilla siamensis*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.44 การเกิดโรคนบนใบ *Vanilla albida* (a) และ *Vanilla ptilifera* (b) หลังจากปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลตต่างๆ เป็นเวลา 15 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ภาพที่ 4.45 การเกิดโรคนบนใบ *Vanilla planifolia* (a) และ *Vanilla siamensis* (b) หลังจากปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลตต่างๆ เป็นเวลา 15 วัน

4.4 การทดสอบการตอบสนองของวานิลาที่มีต่อปุ๋ยเคมี

จากการทดสอบอิทธิพลของปุ๋ยเคมีที่มีต่อต้นวานิลา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albid*a, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า *V. planifolia* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 มีความยาวของเถาเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 271.45 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ไม่ใส่ปุ๋ย) รองลงมา ได้แก่ *V. pilifera* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ *V. planifolia* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 มีความยาวของเถาเฉลี่ยเท่ากับ 241.40 และ 237.62 เซนติเมตร ตามลำดับ และ *V. pilifera* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 และ *V. siamensis* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 มีความยาวเถาเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 187.27 และ 187.04 เซนติเมตร ตามลำดับ และความยาวเถาของ *V. albid*a ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 8-24-24 มีความยาวไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ control (ไม่ใส่ปุ๋ย) เท่ากับ 174.54 และ 170.75 เซนติเมตร ตามลำดับ และความยาวเถาของ *V. aphylla* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ *V. siamensis* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 มีความยาวของเถาเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 135.12 และ 79.62 เซนติเมตร ตามลำดับ และ ต้นวานิลาที่มีความยาวของเถาน้อยที่สุด คือ *V. aphylla* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 โดยมีค่าความยาวของเถาเฉลี่ย เท่ากับ 75.12 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ไม่ใส่ปุ๋ย)

ในด้านจำนวนใบของวานิลาให้ผลคล้ายกันกับความยาวของเถา กล่าวคือ *V. planifolia* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 8-24-24 และ *V. pilifera* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 มีจำนวนใบวานิลาเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 31.25, 28.25 และ 31.25 ใบ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ control (ไม่ใส่ปุ๋ย) รองลงมา ได้แก่ *V. albid*a ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 มีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 27.25 ใบ และ *V. albid*a และ *V. pilifera* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 ที่มีจำนวนของใบเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 24 และ 24 ใบ ตามลำดับ *V. siamensis* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 มีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 19.25 ใบ ซึ่งแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ control และ วานิลาที่พบว่ามีจำนวนใบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ *V. siamensis* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 มีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 10.25 ใบ

สำหรับจำนวนตาที่แตกใหม่ของต้นวานิลา พบว่า *V. planifolia* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 มีจำนวนตาที่แตกใหม่เฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 3 ตา ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ไม่ใส่ปุ๋ย) รองลงมา คือ *V. pilifera* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 มีค่าเท่ากับ 2.5 ตา และ *V. albid*a ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 8-24-24 และ *V. siamensis* ที่ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 มีจำนวนตาที่แตกใหม่เฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 1.5, 1.5 และ 1.5 ตา ตามลำดับ และพบว่า *V. pilifera*, *V. planifolia* และ *V. siamensis* ที่ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 และ *V. aphylla* ที่ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 8-24-24 มีจำนวนตาที่แตกใหม่เฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อ

เปรียบเทียบกับ control (ไม่ใส่ปุ๋ย) โดยมีค่าเท่ากับ 1.25, 1, 0.5, 1.25 และ 1.25 ตา ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6 ภาพที่ 4.46-4.50)

ตารางที่ 4.6 อิทธิพลของชนิดปุ๋ยเคมีที่มีต่อสายพันธุ์วานิลลา

วานิลลา	ปุ๋ยเคมี	ความยาวเถา (ซม.)	จำนวนใบ	จำนวนตาที่แตกใหม่
<i>V. albida</i>	ไม่ใส่ปุ๋ย	71.00e ¹⁾	12.25de	1.25c
	สูตร 15-15-15	174.54c	27.25ab	1.50bc
	สูตร 8-24-24	170.75c	24.00abc	1.50bc
<i>V. pilifera</i>	ไม่ใส่ปุ๋ย	159.45c	17.50cde	0.75c
	สูตร 15-15-15	241.40ab	31.25a	2.50ab
	สูตร 8-24-24	187.27bc	24.00abc	1.25c
<i>V. planifolia</i>	ไม่ใส่ปุ๋ย	143.54c	14.00de	1.00c
	สูตร 15-15-15	271.45a	31.25a	2.75a
	สูตร 8-24-24	237.62ab	28.25a	1.00c
<i>V. siamensis</i>	ไม่ใส่ปุ๋ย	70.37e	10.00e	0.75c
	สูตร 15-15-15	187.04bc	19.25bcd	1.50bc
	สูตร 8-24-24	79.62de	10.25e	0.50c
<i>V. aphylla</i>	ไม่ใส่ปุ๋ย	75.12e	-	1.25c
	สูตร 15-15-15	135.12cd	-	1.25c
	สูตร 8-24-24	50.87e	-	1.25c
CV. (%)		19.43	19.09	40.31

¹⁾ ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หมายเหตุ คือ T1 = ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี T2 = สูตร 15-15-15 T3 = สูตร 8-24-24

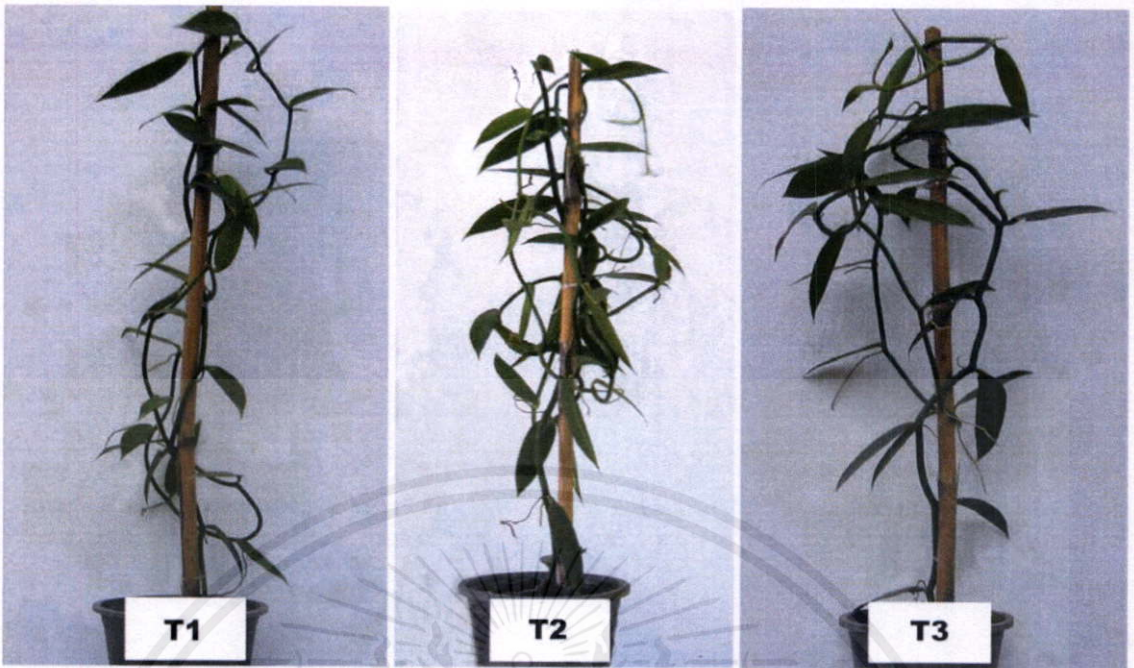
ภาพที่ 4.46 อิทธิพลการตอบสนองของปุ๋ยเคมีต่อ *Vanilla albida* หลังจากการใส่ปุ๋ยเป็นเวลา 3 เดือน



หมายเหตุ คือ T1 = ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี T2 = สูตร 15-15-15 T3 = สูตร 8-24-24

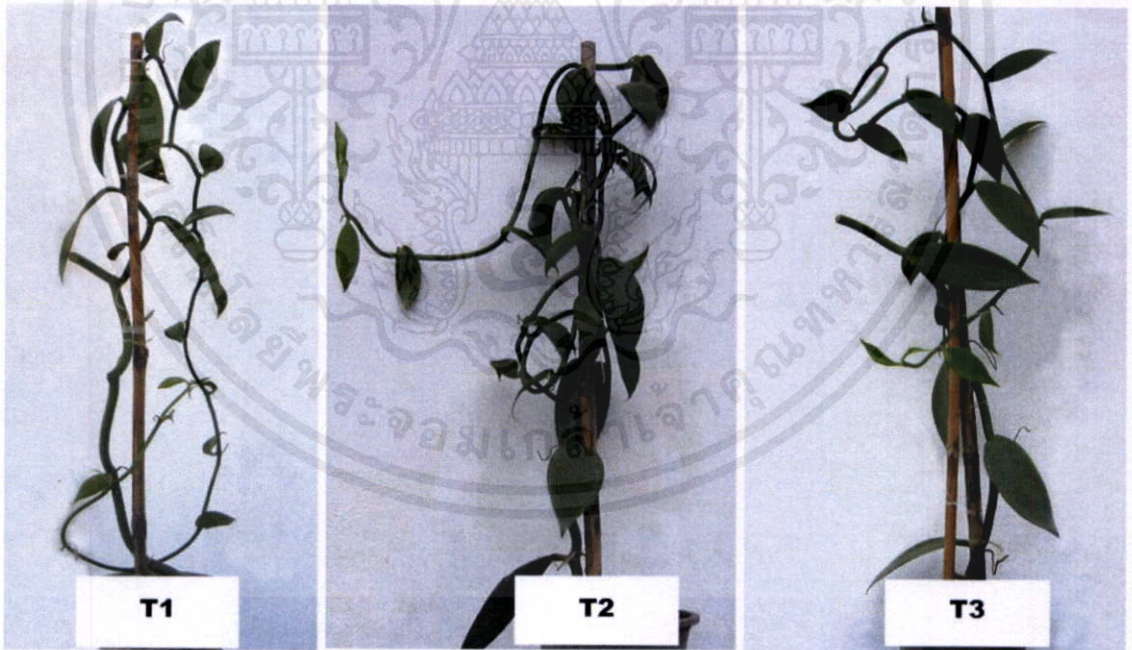
ภาพที่ 4.47 อิทธิพลการตอบสนองของปุ๋ยเคมีต่อ *Vanilla piliifera* หลังจากการใส่ปุ๋ยเป็นเวลา 3 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หมายเหตุ คือ T1 = ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี T2 = สูตร 15-15-15 T3 = สูตร 8-24-24

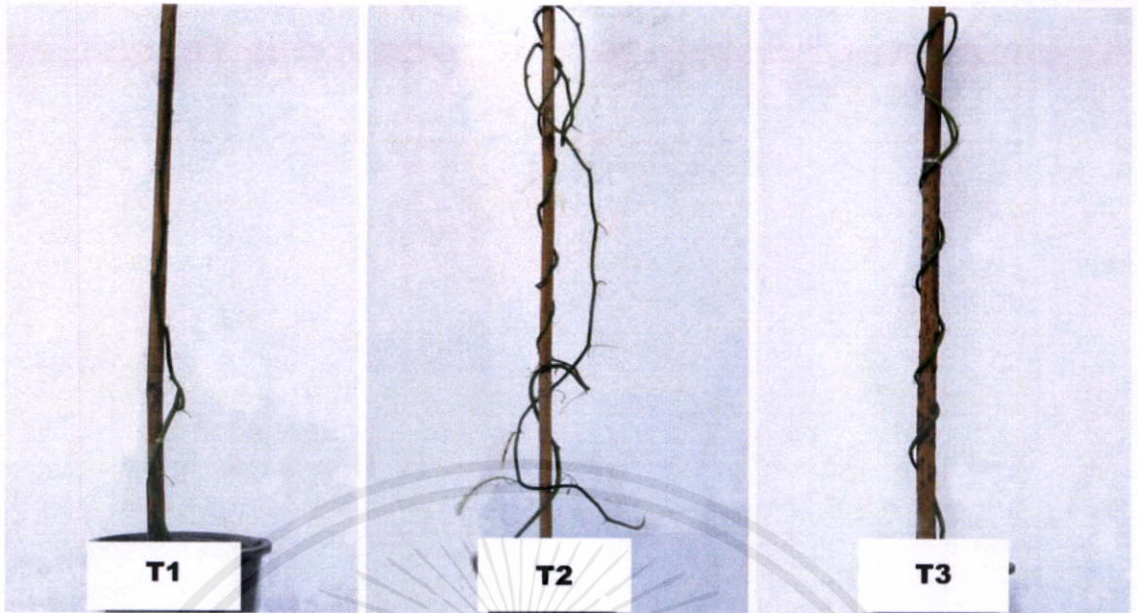
ภาพที่ 4.48 อิทธิพลการตอบสนองของปุ๋ยเคมีต่อ *Vanilla planifolia* หลังจากการใส่ปุ๋ยเป็นเวลา 3 เดือน



หมายเหตุ คือ T1 = ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี T2 = สูตร 15-15-15 T3 = สูตร 8-24-24

ภาพที่ 4.49 อิทธิพลการตอบสนองของปุ๋ยเคมีต่อ *Vanilla siamensis* หลังจากการใส่ปุ๋ยเป็นเวลา 3 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย



หมายเหตุ คือ T1 = ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี T2 = สูตร 15-15-15 T3 = สูตร 8-24-24

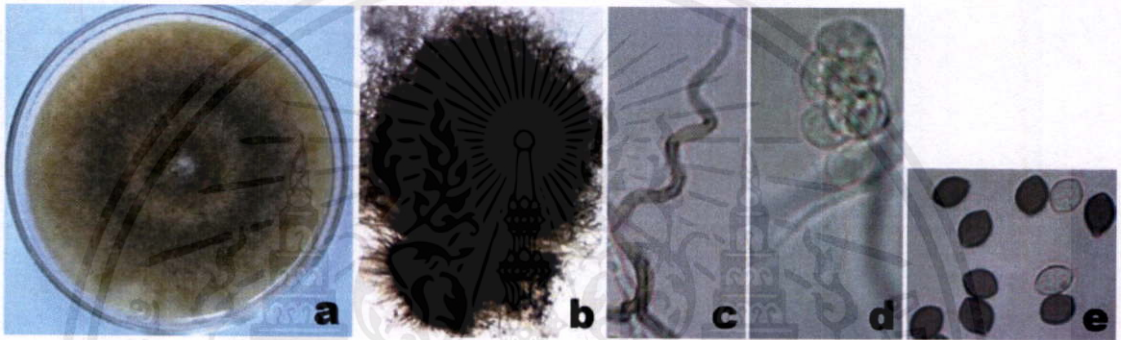
ภาพที่ 4.50 อิทธิพลการตอบสนองของปุ๋ยเคมีต่อ *Vanilla aphylla* หลังจากการใส่ปุ๋ยเป็นเวลา 3 เดือน

4.5 การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (Microbial antagonists) ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในสภาพห้องปฏิบัติการ และในสภาพกระถางทดลองของวานิลลาสายพันธุ์ที่ทดลองปลูกเชิงการค้า

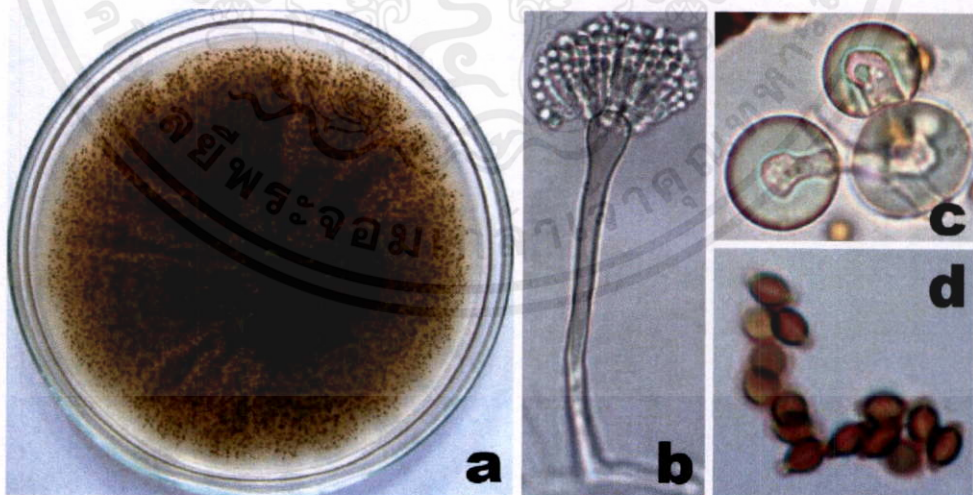
4.5.1 ศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์โดยวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วม (Bi-culture antagonistic tests)

จากการทดลองการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 ที่แยกได้จาก *Vanilla albidia* โดยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA ระหว่างจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *Chaetomium elatum* (ภาพที่ 4.51) และ *Emericella nidulans* (ภาพที่ 4.52) กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 เป็นเวลา 30 วัน พบว่า *Ch. elatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้เท่ากับ 46.11 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 4.86 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (control) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 98.05 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 0.18×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) มีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 9.36×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ส่วน

E. nidulans สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้เท่ากับ 46.67 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 4.80 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (control) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 42.75 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 6.25×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) มีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 10.91×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.7-4.8 ภาพที่ 4.53)



ภาพที่ 4.51 เชื้อรา *Chaetomium elatum* อายุ 10 วัน บนอาหาร PDA a) ascomata b) hair c) ascus d) ascospores e)



เอกสารนี้ ภาพที่ 4.52 เชื้อรา *Emericella nidulans* อายุ 10 วัน บนอาหาร PDA a) ระยะ imperfect stage ของ *Emericella nidulans* b) Hüe cell c) ascospores d) ของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII ที่แยกได้จาก *V. pilifera* โดยวิธีเลี้ยงเชื้อพร้อมบนอาหาร PDA ระหว่างจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *Ch. elatum* และ *E. nidulans* กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII เป็นเวลา 30 วัน พบว่า *Ch. elatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้เท่ากับ 46.67 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 4.73 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 90.16 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 1.25×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) มีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 12.81×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ส่วน *E. nidulans* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้เท่ากับ 46.94 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 4.70 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 16.38 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 13.25×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) มีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 15.83×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.9-4.10 ภาพที่ 4.54)

จากการทดลองการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 ที่แยกได้จาก *V. planifolia* โดยวิธีเลี้ยงเชื้อพร้อมบนอาหาร PDA ระหว่างจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *Ch. elatum* และ *E. nidulans* กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 เป็นเวลา 30 วัน พบว่า *Ch. elatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้เท่ากับ 44.72 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 5.03 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 95.25 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 0.56×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) มีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 11.83×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ส่วน *E. nidulans* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้เท่ากับ 46.11 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 4.83 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี

เฉลี่ยเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 36.35 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 7.75×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) มีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 12.18×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.11-4.12 ภาพที่ 4.55)

จากการทดลองการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 ที่แยกได้จาก *V. siamensis* โดยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA ระหว่างจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *Ch. elatum* และ *E. nidulans* กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 เป็นเวลา 30 วัน พบว่า *Ch. elatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้เท่ากับ 48.89 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 4.63 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 79.99 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 0.97×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) มีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 14.56×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ส่วน *E. nidulans* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้เท่ากับ 46.11 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 4.86 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เท่ากับ 42.31 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 11×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (Control) มีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 16.25×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.13-4.14 ภาพที่ 4.56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)		GI (%) ²	CV (%)
	Control	Bi-culture		
<i>Ch. elatum</i>	9.00a ¹	4.86b	46.11	1.55
<i>E. nidulans</i>	9.00a	4.80b	46.67	2.71

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

² เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (GI) = ((R1 - R2)/R1) x 100; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

ตารางที่ 4.8 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	จำนวนสปอร์ (x 10 ⁶ spore/ml)		GI (%) ²	CV (%)
	Control	Bi-culture		
<i>Ch. elatum</i>	9.36a ¹	0.18b	98.05	6.94
<i>E. nidulans</i>	10.91a	6.25b	42.75	7.99

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

² เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ (GI) = ((R1 - R2)/R1) x 100; R1 = ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla plicifera* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)		GI (%) ²⁾	CV (%)
	Control	Bi-culture		
<i>Ch. elatum</i>	9.00a ¹⁾	4.73b	46.67	1.57
<i>E. nidulans</i>	9.00a	4.70b	46.94	1.78

¹⁾ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

²⁾ เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (GI) = $((R1 - R2)/R1) \times 100$; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

ตารางที่ 4.10 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla plicifera* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	จำนวนสปอร์ (x 10 ⁶ spore/ml)		GI (%) ²⁾	CV (%)
	Control	Bi-culture		
<i>Ch. elatum</i>	12.81a ¹⁾	1.25b	90.16	21.23
<i>E. nidulans</i>	15.83a	13.25b	16.38	7.71

¹⁾ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

²⁾ เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ (GI) = $((R1 - R2)/R1) \times 100$; R1 = ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)		GI (%) ²⁾	CV (%)
	Control	Bi-culture		
<i>Ch. elatum</i>	9.00a ¹⁾	5.03b	44.72	0.58
<i>E. nidulans</i>	9.00a	4.83b	46.11	1.56

¹⁾ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

²⁾ เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (GI) = ((R1 - R2)/R1) x 100; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

ตารางที่ 4.12 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	จำนวนสปอร์ (x 10 ⁶ spore/ml)		GI (%) ²⁾	CV (%)
	Control	Bi-culture		
<i>Ch. elatum</i>	11.83a ¹⁾	0.56b	95.25	6.46
<i>E. nidulans</i>	12.18a	7.75b	36.35	16.55

¹⁾ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

²⁾ เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ (GI) = ((R1 - R2)/R1) x 100; R1 = ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla siamensis* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)		GI (%) ^{2/}	CV (%)
	Control	Bi-culture		
<i>Ch. elatum</i>	9.00a ^{1/}	4.63b	48.89	1.19
<i>E. nidulans</i>	9.00a	4.86b	46.11	0.58

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

^{2/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (GI) = $((R1 - R2)/R1) \times 100$; R1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

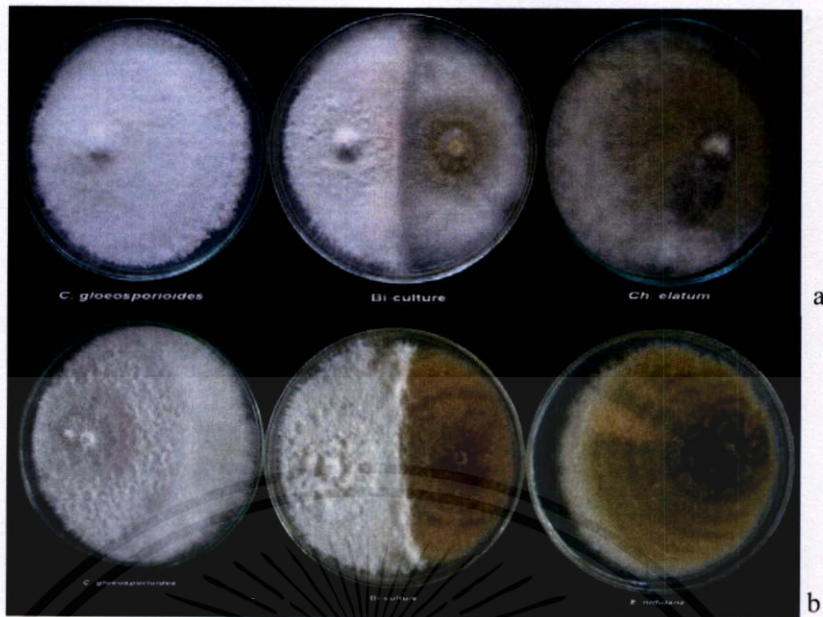
ตารางที่ 4.14 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla siamensis* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test ที่อายุ 30 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	จำนวนสปอร์ (x 10 ⁶ spore/ml)		GI (%) ^{2/}	CV (%)
	Control	Bi-culture		
<i>Ch. elatum</i>	14.56a ^{1/}	0.97b	79.99	21.05
<i>E. nidulans</i>	16.25a	11.00b	42.31	19.85

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

^{2/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ (GI) = $((R1 - R2)/R1) \times 100$; R1 = ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = ปริมาณสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

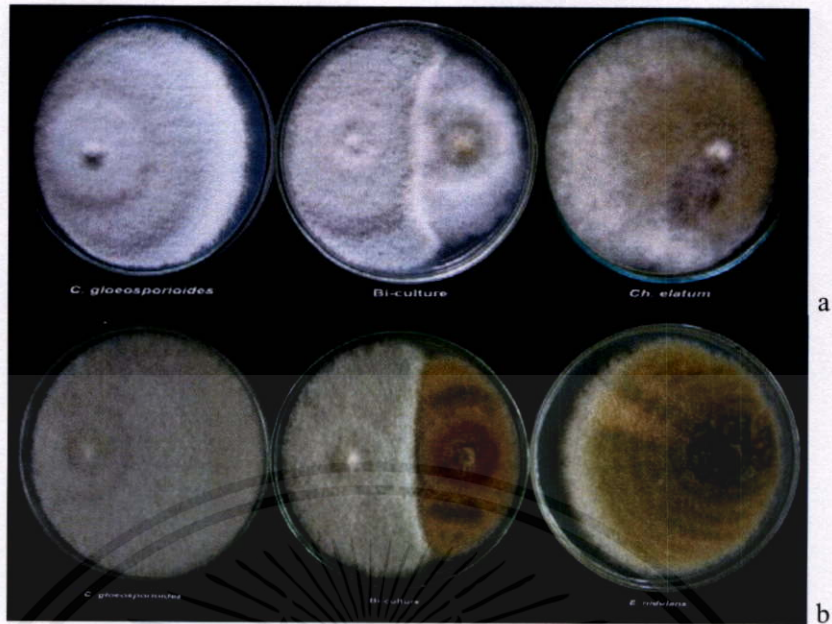
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



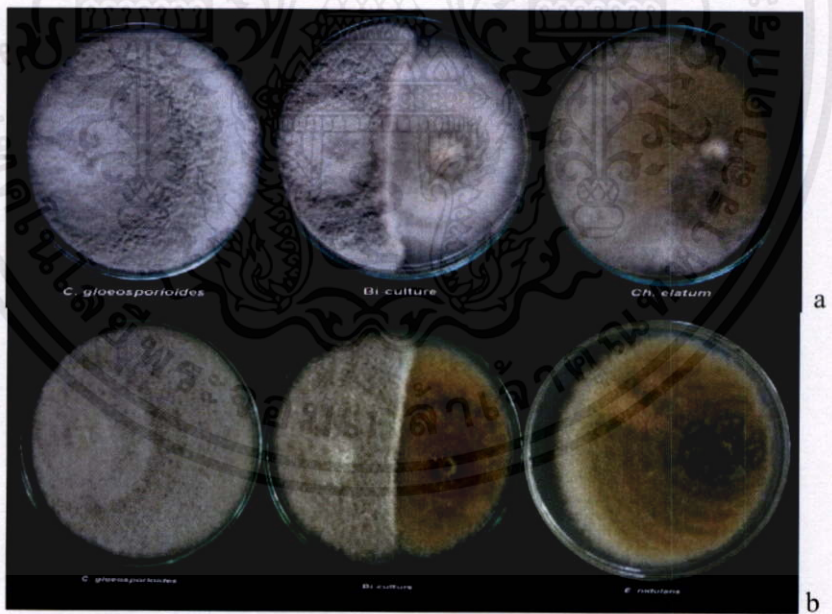
ภาพที่ 4.53 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla albida* บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม ที่อายุ 10 วัน : (a) *Chaetomium elatum* และ (b) *Emericella nidulans*



ภาพที่ 4.54 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla pilifera* บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม ที่อายุ 10 วัน : (a) *Chaetomium elatum* และ (b) *Emericella nidulans*



ภาพที่ 4.55 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia* บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม ที่อายุ 10 วัน : (a) *Chaetomium elatum* และ (b) *Emericella nidulans*



ภาพที่ 4.56 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla siamensis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม ที่อายุ 10 วัน : (a) *Chaetomium elatum* และ (b) *Emericella nidulans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกส่งเนื้อหาและห้องอ้างอิงถึงเจ้าของเนื้อหาหรือหน่วยงานที่มีการนำไปใช้

4.5.2 การทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบ (Crude extract tests)

จากการเลี้ยงเชื้อรา *Ch. elatum* ในอาหาร PDB จำนวน 20 ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน นำมากรองได้เส้นใยมีน้ำหนักสด 1,900 กรัม แล้วนำมาผึ่งให้แห้งในห้องทดลองที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน ได้น้ำหนักแห้ง 67 กรัม นำไปบดและแช่ด้วยตัวทำละลาย hexane ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้เก็บไว้ และนำกากที่แยกออกแช่ด้วยตัวทำละลาย hexane อีกครั้ง เขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลายออก นำสารละลายครั้งที่ 1 และ 2 มาสกัดตัวทำละลายออกโดยผ่านเครื่อง rotary vacuum evaporator ได้สารสกัดหยาบ hexane (CE-H) 1.05 กรัม ส่วนกากที่ได้จากการกรองแยกสารละลาย นำมาแช่ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่อง shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้เก็บไว้ และนำกากที่แยกออกแช่ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate อีกครั้ง เขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลายออก นำสารละลายครั้งที่ 1 และ 2 มาสกัดตัวทำละลายออกได้สารสกัดหยาบ ethyl acetate (CE-E) 7.16 กรัม กากที่แยกได้นำมาแช่ด้วยตัวทำละลาย methanol ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่อง shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้เก็บไว้ และนำกากที่แยกออกแช่ด้วยตัวทำละลาย methanol อีกครั้ง เขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลายออก นำสารละลายครั้งที่ 1 และ 2 มาสกัดตัวทำละลายออกได้สารสกัดหยาบ methanol (CE-M) 7.43 กรัม

จากการเลี้ยงเชื้อรา *E. nidulans* ในอาหาร PDB จำนวน 30 ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน นำมากรองได้เส้นใยมีน้ำหนักสด 2,000 กรัม แล้วนำมาผึ่งให้แห้งในห้องทดลองที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน ได้น้ำหนักแห้ง 74 กรัม นำไปบดและแช่ด้วยตัวทำละลาย hexane ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้เก็บไว้ และนำกากที่แยกออกแช่ด้วยตัวทำละลาย hexane อีกครั้ง เขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลายออก นำสารละลายครั้งที่ 1 และ 2 มาสกัดตัวทำละลายออกโดยผ่านเครื่อง rotary vacuum evaporator ได้สารสกัดหยาบ hexane (EN-H) 1.92 กรัม ส่วนกากที่ได้จากการกรองแยกสารละลาย นำมาแช่ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่อง shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้เก็บไว้ และนำกากที่แยกออกแช่ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate อีกครั้ง เขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลายออก นำสารละลายครั้งที่ 1 และ 2 มาสกัดตัวทำละลายออกได้สารสกัดหยาบ ethyl acetate (EN-E) 3.40 กรัม กากที่แยกได้นำมาแช่ด้วยตัวทำละลาย methanol ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่อง shaker เป็นเวลา 1 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้เก็บไว้ และนำกากที่แยกออกแช่ด้วยตัวทำละลาย methanol อีกครั้ง เขย่าบน shaker เป็นเวลา 1

วัน กรองแยกกากและสารละลายออก นำสารละลายครั้งที่ 1 และ 2 มาสกัดตัวทำละลายออกได้สารสกัดหยาบ methanol (EN-M) 3.41 กรัม

จากการทดสอบการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 เป็นเวลา 5 วัน ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ให้ผลในการเจริญของโคโลนีน้อยที่สุด โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 2.12, 2.27 และ 1.94 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง เท่ากับ 57.50, 54.50 และ 61.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ความระดับความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$ ให้ผลในการเจริญของโคโลนีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.27, 3.40 และ 3.37 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15 ภาพที่ 4.57) จากการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 8,204, 154 และ 1,604 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

สำหรับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรามากที่สุด เท่ากับ 96.21 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) โดยมีปริมาณสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.06×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol และ hexane ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 92.29 และ 91.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.17×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 100 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเท่ากับ 86.50, 87.17, 83.92, 83.27, 79.48, 75.33 และ 73.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์น้อยที่สุด เท่ากับ 30.35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) (ตารางที่ 4.15) จากการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถ

เอกสารนี้เป็น
ไม่ว่ากรณีใด

ในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 แยกต่างหาก โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 4, 15 และ 4 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

สำหรับการทดสอบการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII เป็นเวลา 5 วัน พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 µg/ml มีผลให้การเจริญของโคโลนีมีค่าน้อยที่สุด โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย เท่ากับ 2.59 และ 2.50 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของโคโลนี เท่ากับ 48 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีการเจริญของโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.27 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี เท่ากับ 34.50 เปอร์เซ็นต์ และ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 100 µg/ml มีการเจริญของโคโลนีเฉลี่ย เท่ากับ 3.92 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีเท่ากับ 21.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) ยกเว้น สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane และ methanol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/ml ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีการเจริญเติบโตของโคโลนีมากที่สุดเท่ากับ 4.95 และ 4.97 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีเท่ากับ 1.00 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.16 ภาพที่ 4.58) ในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII แยกต่างหาก โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 4,053, 802 และ 1,208 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

ในด้านของปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์มากที่สุด เท่ากับ 97.57 และ 98.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.25 และ 0.15 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 µg/ml และ ตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีผลในการยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง เท่ากับ 94.11, 96.97 และ 95.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์น้อยที่สุด เท่ากับ 53.73 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 1.32×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4.16) และในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละ

ชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII แตกต่างกัน โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 0.64, 0.93 และ 0.0003 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

จากการทดสอบการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 เป็นเวลา 5 วัน ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีการเจริญของโคโลนีน้อยที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 2.45 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตมากที่สุดเท่ากับ 51.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 $\mu\text{g/ml}$ มีการเจริญของโคโลนีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 2.65 และ 2.60 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 47.00 และ 48.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของโคโลนีไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 30.00 และ 29.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย เท่ากับ 3.50 และ 3.55 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.17 ภาพที่ 4.59) ในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 1,506, 548 และ 3,598 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

สำหรับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 พบว่า สารสกัดหยาบจาก *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ทำให้มีเปอร์เซ็นต์มากที่สุด เท่ากับ 98.46 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณสปอร์ เท่ากับ 0.13×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol และ hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 98.11 และ 98.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณสปอร์ เท่ากับ 0.18 และ $0.19 (x 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) และสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol และ ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ เท่ากับ 96.38 และ 96.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีปริมาณสปอร์เท่ากับ 0.35 และ $0.31 (x 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) และพบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ มีผลทำให้มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์น้อยที่สุด เท่ากับ 86.21 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณสปอร์ เท่ากับ 1.18×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีค่าแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) (ตารางที่ 4.17) และในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ด้วย

ตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 0.089, 0.02 และ 0.017 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

จากการทดสอบการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 เป็นเวลา 5 วัน ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีผลต่อการเจริญของโคโลนีมากที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 1.95 และ 1.82 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเท่ากับ 61.00 และ 63.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย เท่ากับ 2.37 เซนติเมตร แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 52.50 เปอร์เซ็นต์ และ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ มีค่าการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย เท่ากับ 2.67 และ 2.80 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต เท่ากับ 46.50 และ 44.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้การเจริญของโคโลนีมีค่ามากที่สุด เท่ากับ 4.62 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) (ตารางที่ 4.18 ภาพที่ 4.86) ในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 1,924, 326 และ 938 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

สำหรับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 พบว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 95.68 และ 98.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณสปอร์ เท่ากับ 0.11 และ 0.03 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 10, 50 และ 100 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 84.88, 85.34, 90.49 และ 92.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณสปอร์ เท่ากับ 0.40, 1.16, 0.93 และ 0.73 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ และ พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์น้อยที่สุด เท่ากับ 20.45 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณสปอร์เท่ากับ 2.31×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.18) และในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา

Ch. elatum ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 81, 27 และ 12 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.19)

จากการทดลองสังเกตลักษณะของสปอร์ พบว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* ที่ใช้ทดสอบมีผลต่อการสลายตัวของเชื้อราสาเหตุโรค โดยลักษณะของไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ภายในสปอร์รวมตัวกันเป็นก้อน หรือ เกิดการสลายตัวของผนังสปอร์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ดังภาพที่ 4.61



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium elatum* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลต VA8 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* ที่อายุ 5 วัน

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (cm.)	ปริมาณการ สร้างสปอร์ ($\times 10^6$ spore/ml)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ^{1/}
Hexane	0	5.00a ^{2/}	2.19a		
	10	5.00a	0.77d	0.75e	64.82f
	50	4.80a	0.77d	4.00de	63.90f
	100	4.47ab	0.30ef	10.50cde	86.50abc
	500	4.27ab	0.27ef	14.50cde	87.17abc
	1,000	3.87bcd	0.17f	22.50bc	91.81ab
Ethyl acetate	0	5.00a	1.35c		
	10	3.77bcd	0.91d	24.50bc	30.35h
	50	3.37cd	0.71d	32.50b	45.87g
	100	2.12e	0.35ef	57.50a	73.04def
	500	2.27e	0.32ef	54.50a	75.33cdef
	1,000	1.94e	0.21f	61.00a	83.27abcd
Methanol	0	5.00a	1.90b		
	10	4.92a	0.60de	1.50e	67.87ef
	50	4.32ab	0.37ef	13.50cde	79.48bcde
	100	4.04bc	0.29ef	19.00bcd	83.92abcd
	500	3.27d	0.17f	34.50b	92.29ab
	1,000	3.40cd	0.06f	32.00b	96.21a
	CV. (%)	9.05	24.04	30.47	8.31

^{1/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = ((เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารทดสอบ) / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ) $\times 100$

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium elatum* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla pififera* ที่อายุ 5 วัน

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (cm.)	ปริมาณการ สร้างสปอร์ (\times 10^6 spore/ml)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ¹⁾
Hexane	0	5.00a ²⁾	10.61a		
	10	4.95a	0.96cd	1.00hi	90.81abc
	50	4.72c	0.61d	5.50g	94.11ab
	100	4.67c	0.31d	6.50g	96.97ab
	500	4.50d	0.25d	10.00f	97.57a
	1,000	4.12g	0.15d	17.50d	98.53a
Ethyl acetate	0	5.00a	9.39b		
	10	4.30ef	2.15c	14.00de	76.81de
	50	4.20fg	1.38cd	16.00d	84.92bcd
	100	3.92h	0.96cd	21.50c	89.55abc
	500	2.59j	0.65d	48.00a	92.76abc
	1,000	2.50j	0.38d	50.00a	95.74ab
Methanol	0	5.00a	9.20b		
	10	4.97a	1.32cd	0.50i	53.73g
	50	4.92ab	0.86d	1.50hi	63.01fg
	100	4.77bc	0.69d	4.50gh	71.29ef
	500	4.40de	0.56d	12.00ef	81.91cde
	1,000	3.27i	0.29d	34.50b	86.32abcd
CV. (%)		1.88	26.02	11.19	6.58

¹⁾ เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = ((เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารทดสอบ) / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ) \times 100

²⁾ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 ประสิทธิภาพของสารสกัดขยายจากเชื้อรา *Chaetomium elatum* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคน้ำเน่าแตรคโนสของ *Vanilla planifolia* ที่อายุ 5 วัน

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (cm.)	ปริมาณการ สร้างสปอร์ (x 10^6 spore/ml)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ^{1/}
Hexane	0	5.00a ^{2/}	9.73a		
	10	4.95a	0.97cd	1.00i	90.03e
	50	4.70b	0.50defg	6.00h	94.87d
	100	4.60bc	0.42defg	8.00gh	95.62c
	500	4.15e	0.30efg	17.00e	96.89abc
	1,000	3.50g	0.19efg	30.00c	98.03ab
Ethyl acetate	0	5.00a	8.58b		
	10	3.97f	1.18c	20.50d	86.21g
	50	3.50g	0.75cde	30.00c	91.20de
	100	2.65h	0.66cdefg	47.00b	92.22d
	500	2.60h	0.31efg	48.00b	96.39bc
	1,000	2.45i	0.13g	51.00a	98.46a
Methanol	0	5.00a	9.67a		
	10	5.00a	1.15c	0.00i	88.06f
	50	4.55c	0.70cdef	9.00g	92.75d
	100	4.50c	0.45defg	10.00g	95.35c
	500	4.35d	0.35efg	13.00f	96.38bc
	1,000	3.55g	0.18fg	29.00c	98.11ab
CV. (%)		1.31	12.90	5.55	1.02

^{1/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = ((เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารทดสอบ) / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ) x 100

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium elatum* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla siamensis* ที่อายุ 5 วัน

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (cm.)	ปริมาณการ สร้างสปอร์ (\times 10^6 spore/ml)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ^{1/}
Hexane	0	5.00a ^{2/}	2.86a		
	10	4.62c	2.31bc	7.50i	20.45e
	50	4.77b	1.85cd	4.50j	35.60d
	100	4.15e	1.30ef	17.00g	54.67c
	500	3.64g	0.61hij	27.00e	78.88b
	1,000	3.35h	0.33ijk	33.00d	88.39ab
Ethyl acetate	0	5.00a	2.67ab		
	10	4.40d	1.65de	12.00h	37.78d
	50	3.85f	1.28ef	23.00f	51.97c
	100	2.67i	0.40hijk	46.50c	84.88ab
	500	1.95k	0.11jk	61.00a	95.68a
	1,000	1.82k	0.03k	63.50a	98.82a
Methanol	0	5.00a	2.65ab		
	10	4.07e	1.16efg	18.50g	85.34ab
	50	3.85f	0.93fgh	23.00f	90.49ab
	100	3.85f	0.73ghi	23.00f	92.28ab
	500	2.80i	0.46hijk	44.00c	93.87a
	1,000	2.37j	0.36ijk	52.50b	96.85a
	CV. (%)	1.85	21.64	4.95	8.98

^{1/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = ((เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารทดสอบ) / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ) \times 100

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

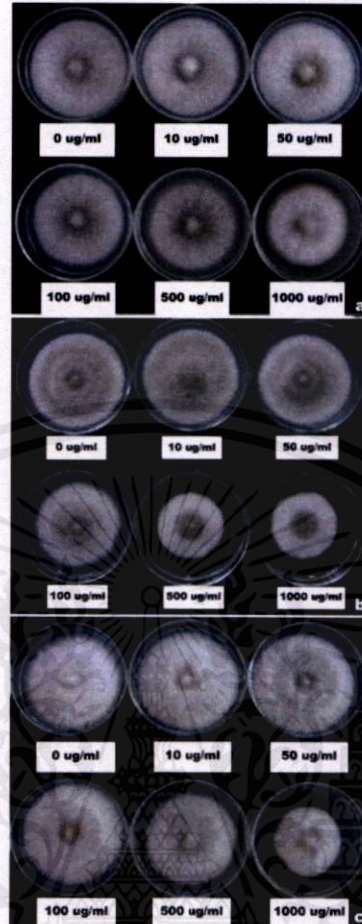
ตารางที่ 4.19 ค่า ED₅₀ ของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium elatum* ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

ไอโซเลต	ED ₅₀ ของโคโลนี (µg/ml)			ED ₅₀ ของการสร้างสปอร์ (µg/ml)		
	Hexane	Ethyl acetate	Methanol	Hexane	Ethyl acetate	Methanol
VA8	8,204	154	1,604	4	15	4
VII	4,053	802	1,208	0.64	0.93	0.0003
VP8	1,506	548	3,598	0.089	0.02	0.017
VS3	1,924	326	938	81	27	12

หมายเหตุ: VA = *Vanilla albida*; VI = *Vanilla ptilifera*; VP = *Vanilla planifolia* และ VS = *Vanilla siamensis*

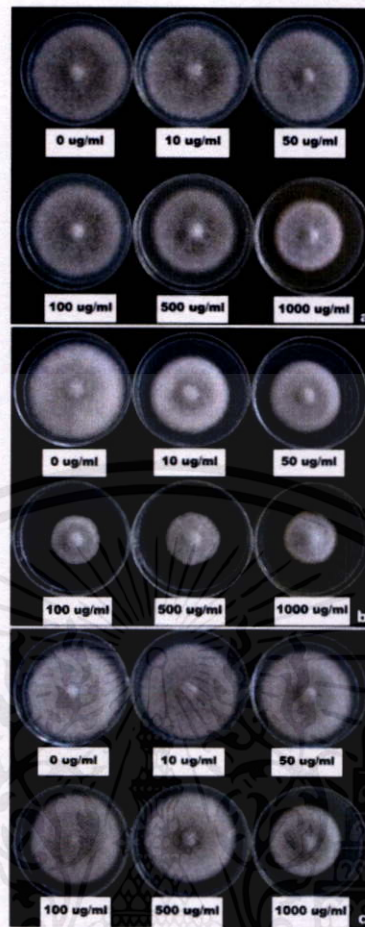


ภาพที่ 4.57 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลต VA8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla albida* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *Chaetomium elatum* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (a) Hexane (b) Ethyl acetate (c) Methanol



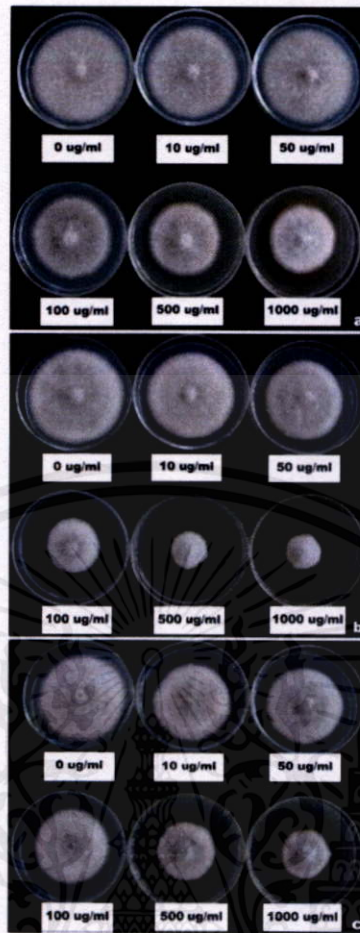
ภาพที่ 4.58 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla plicifera* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *Chaetomium elatum* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (a) Hexane (b) Ethyl acetate (c) Methanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



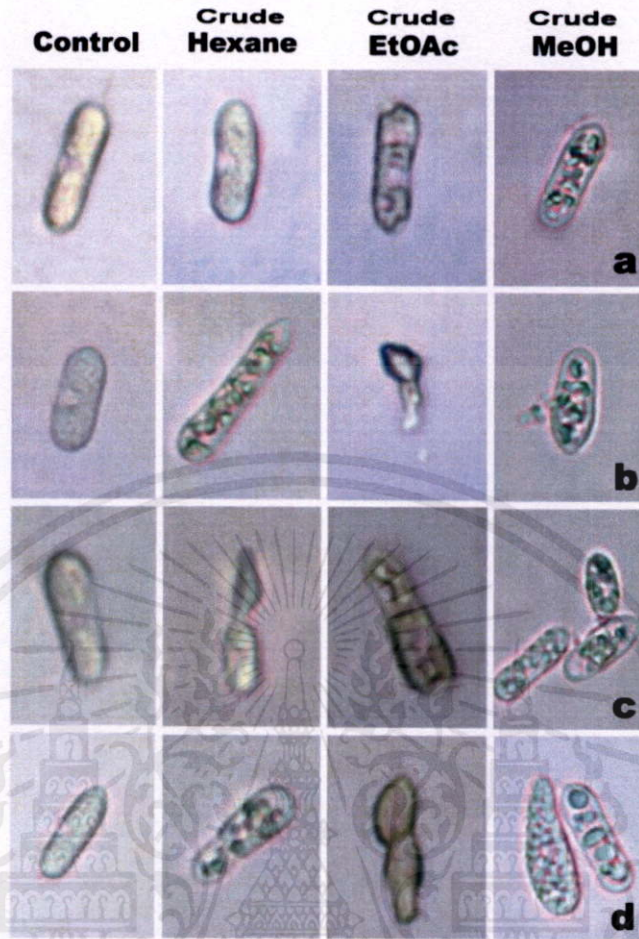
ภาพที่ 4.59 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลต VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *Chaetomium elatum* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (a) Hexane (b) Ethyl acetate (c) Methanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.60 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลต VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla siamensis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *Chaetomium elatum* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (a) Hexane (b) Ethyl acetate (c) Methanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.61 อิทธิพลของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium elatum* ที่มีผลต่อสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ a) VA = *Vanilla albida*; b) VI = *Vanilla ptilifera*; c) VP = *Vanilla planifolia* และ d) VS = *Vanilla siamensis*

จากการทดสอบการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลต VA8 เป็นเวลา 5 วัน ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีการเจริญของโคโลนีน้อยที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 2.85 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g/ml}$) และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 43.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย เท่ากับ 2.97 เซนติเมตร โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 40.50 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 4.85 เซนติเมตร

(ตารางที่ 4.20 ภาพที่ 4.62) และในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 5,055, 4,388 และ 8,328 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

สำหรับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 พบว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเท่ากับ 93.65 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.10×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml และ ตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 500 µg/ml มีค่าการยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 92.05 และ 90.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) เท่ากับ 89.02 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.15×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และ พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และ methanol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์น้อยที่สุดเท่ากับ 45.46 และ 41.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.69 และ 0.83 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.20) ในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิด มีความสามารถในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 1, 0.25 และ 1 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

จากการทดสอบการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII เป็นเวลา 5 วัน ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีการเจริญเติบโตของโคโลนีน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 2.85 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต เท่ากับ 43.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย เท่ากับ 3.27 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต เท่ากับ 0.34 เปอร์เซ็นต์ และ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย เท่ากับ 3.52 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต เท่ากับ 29.50 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/ml มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) โดยมี

ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 4.92 เซนติเมตร และ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเท่ากับ 1.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.21 ภาพที่ 4.63) และในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII แตกต่างกัน โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 5,523, 1,855 และ 3,280 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

สำหรับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII พบว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 µg/ml และ ตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์มากที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 89.59, 92.62 และ 92.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย เท่ากับ 0.73, 0.52 และ 0.25 (x 10⁶ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 µg/ml และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 100 µg/ml มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 88.44, 88.13 และ 87.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย เท่ากับ 0.36, 0.36 และ 0.90 (x 10⁶ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) และ พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์น้อยที่สุดเท่ากับ 52.46 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 1.36 x 10⁶ สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.21) ในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิด มีความสามารถในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII แตกต่างกัน โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 1, 11 และ 0.0024 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

จากการทดสอบการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 เป็นเวลา 5 วัน ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีการเจริญเติบโตของโคโลนีน้อยที่สุดเท่ากับ 2.62 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) และ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 47.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.22 เซนติเมตร และ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 35.50 เปอร์เซ็นต์ และ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 500 µg/ml และ ตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 µg/ml มีการเจริญเติบโตของโคโลนีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.47, 3.45 และ 3.45 เซนติเมตร ตามลำดับ และ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 30.50, 31.00 และ 31.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.22 ภาพที่ 4.64) และในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา

E. nidulans ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 5,249, 4,922 และ 2,910 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

สำหรับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 พบว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์มากที่สุด ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) เท่ากับ 97.36 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.25×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 500 µg/ml และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 96.81 และ 95.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.30 และ 0.18 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ และ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 µg/ml และ ตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 100 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 94.39, 95.08 และ 94.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.45, 0.35 และ 0.42 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ และ พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/ml และ ตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 10, 50 และ 100 µg/ml และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 10 µg/ml มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์น้อยที่สุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 88.18, 85.33, 87.19, 87.69 และ 86.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.22) ในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิด มีความสามารถในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 0.007, 0.004 และ 0.0013 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

จากการทดสอบการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 เป็นเวลา 5 วัน ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml มีการเจริญเติบโตของเชื้อราน้อยที่สุด ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (0 µg/ml) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.17 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต เท่ากับ 36.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.32 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 33.50 เปอร์เซ็นต์ และ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane และ methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 และ 100 µg/ml ตามลำดับ มีการเจริญเติบโตของเชื้อราไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 3.50 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

การเจริญเติบโต เท่ากับ 30.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.23 ภาพที่ 4.65) และในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 3,012, 6,845 และ 5,686 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

ในด้านของปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 พบว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์มากที่สุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 68.91, 71.56 และ 69.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย เท่ากับ 0.74, 0.68 และ 0.82 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่ระดับความเข้มข้น 10, 50 และ 100 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย hexane ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 $\mu\text{g/ml}$ และ ตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 60.23, 62.23, 64.95, 55.76, 62.44 และ 60.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย เท่ากับ 0.96, 0.91, 0.84, 1.10, 0.93 และ 1.09 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ และ พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 $\mu\text{g/ml}$ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์น้อยที่สุด เท่ากับ 5.58 และ 13.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย เท่ากับ 2.58 และ 2.36 ($\times 10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.23) ในการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ด้วยตัวทำละลาย hexane ethyl acetate และ methanol ผลปรากฏว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิด มีความสามารถในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 แตกต่างกัน โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 240, 0.07 และ 386 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

จากการทดสอบสังเกตลักษณะของสปอร์ พบว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ที่ใช้ทดสอบมีผลต่อการสลายตัวของเชื้อราสาเหตุโรค โดยลักษณะของไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ภายในสปอร์รวมตัวกันเป็นก้อน หรือ เกิดการสลายตัวของผนังสปอร์ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ดังภาพที่ 4.66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.20 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Emericella nidulans* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลต VA8 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* ที่อายุ 5 วัน

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (cm.)	ปริมาณการ สร้างสปอร์ ($\times 10^6$ spore/ml)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ^{1/}
Hexane	0	5.00a ^{2/}	1.60a		
	10	4.85a	0.52de	3.00g	66.08fg
	50	4.29b	0.30fgh	14.00f	81.26bcd
	100	4.10c	0.20h	18.00e	87.29abcd
	500	3.64d	0.15h	27.00d	90.29ab
	1,000	3.45ef	0.10h	31.00cd	93.65a
Ethyl acetate	0	5.00a	1.27b		
	10	3.64d	0.69cd	27.00d	45.46h
	50	3.35f	0.48ef	33.00c	62.30g
	100	3.32f	0.30fgh	33.50c	76.57def
	500	3.07g	0.20h	38.50b	83.92abcd
	1,000	2.97gh	0.10h	40.50ab	92.05ab
Methanol	0	5.00a	1.40b		
	10	4.09c	0.83c	18.00e	41.84h
	50	3.92c	0.43efg	21.50e	68.47efg
	100	3.57de	0.31fgh	28.50d	77.73cde
	500	3.50def	0.24gh	30.00cd	82.01abcd
	1,000	2.85h	0.15h	43.00a	89.02abc
	CV. (%)	2.37	19.48	7.44	7.33

^{1/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = ((เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารทดสอบ) / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ) $\times 100$

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.21 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Emericella nidulans* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla plicifera* ที่อายุ 5 วัน

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (cm.)	ปริมาณการ สร้างสปอร์ ($\times 10^6$ spore/ml)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ^V
Hexane	0	5.00a ^{2/}	3.10a		
	10	4.82ab	1.17cde	3.50ij	61.72de
	50	4.55c	0.65efg	9.00h	78.88c
	100	4.27d	0.36g	14.50fg	88.44ab
	500	3.77fg	0.36g	24.50de	88.13ab
	1,000	3.52h	0.25g	29.50c	92.03a
Ethyl acetate	0	5.00a	2.88b		
	10	4.72bc	1.36cd	5.50hij	52.46f
	50	4.62c	1.18cde	7.50hi	58.43ef
	100	4.35d	1.08cde	13.00g	62.26de
	500	3.60gh	0.89def	28.00cd	68.88d
	1,000	3.27i	0.54fg	34.50b	80.74bc
Methanol	0	5.00a	7.23a		
	10	4.92a	1.54c	1.50j	78.24c
	50	4.20de	1.37cd	16.00fg	80.93bc
	100	3.82f	0.90def	23.50e	87.37ab
	500	4.07e	0.73efg	18.50f	89.59a
	1,000	2.85j	0.52fg	43.00a	92.62a
	CV. (%)	2.23	17.35	11.21	5.06

^V เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = ((เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารทดสอบ) / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ) $\times 100$

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.22 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Emericella nidulans* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia* ที่อายุ 5 วัน

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (cm.)	ปริมาณการ สร้างสปอร์ ($\times 10^6$ spore/ml)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ^{1'}
Hexane	0	5.00a ^{2'}	9.11a		
	10	4.35b	0.96cdef	13.00h	88.18e
	50	3.85d	0.50defg	23.00f	93.20cd
	100	3.65ef	0.42defg	27.00de	94.72abcd
	500	3.45g	0.30efg	31.00c	96.81ab
	1,000	3.45g	0.25fg	31.00c	97.36a
Ethyl acetate	0	5.00a	8.44b		
	10	4.45b	1.45c	11.00h	85.33e
	50	3.80de	1.12cd	24.00ef	87.19e
	100	3.75de	1.04cde	25.00ef	87.69e
	500	3.52fg	0.63defg	29.50cd	92.04d
	1,000	3.22h	0.48defg	35.50b	93.87bcd
Methanol	0	5.00a	9.14a		
	10	4.17c	1.14cd	16.50g	86.37e
	50	3.82d	0.69defg	23.50ef	93.78bcd
	100	3.65ef	0.45defg	27.00de	94.39abcd
	500	3.47g	0.35efg	30.50c	95.08abcd
	1,000	2.62i	0.18g	47.50a	95.77abc
	CV. (%)	2.03	16.82	6.45	1.75

^{1'} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = ((เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารทดสอบ) / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ) $\times 100$

^{2'} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.23 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Emericella nidulans* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla siamensis* ที่อายุ 5 วัน

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง โคโลนี (cm.)	ปริมาณการ สร้างสปอร์ ($\times 10^6$ spore/ml)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ^{1/}
Hexane	0	5.00a ^{2/}	2.51ab		
	10	4.72b	2.10bc	5.50f	16.65cd
	50	4.60b	1.72cd	8.00f	31.07c
	100	3.97d	1.27ef	20.50d	49.50b
	500	3.70ef	1.10efg	26.00c	55.76ab
	1,000	3.50fg	0.93efg	30.00bc	62.44ab
Ethyl acetate	0	5.00a	2.42ab		
	10	4.57b	0.96efg	8.50f	60.23ab
	50	4.20c	0.91efg	16.00e	62.23ab
	100	3.97d	0.84fg	20.50d	64.95ab
	500	3.62ef	0.74g	27.50c	68.91a
	1,000	3.32gh	0.68g	33.50ab	71.56a
Methanol	0	5.00a	2.74a		
	10	4.52b	2.58a	9.50f	5.58d
	50	3.72e	2.36ab	25.50c	13.97d
	100	3.50fg	1.35de	30.00bc	50.46b
	500	3.67ef	1.09efg	26.50c	60.00ab
	1,000	3.17h	0.82fg	36.50a	69.82a
	CV. (%)	2.44	14.74	9.90	16.04

^{1/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = ((เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ - เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารทดสอบ) / เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนจานอาหารเปรียบเทียบกับ) $\times 100$

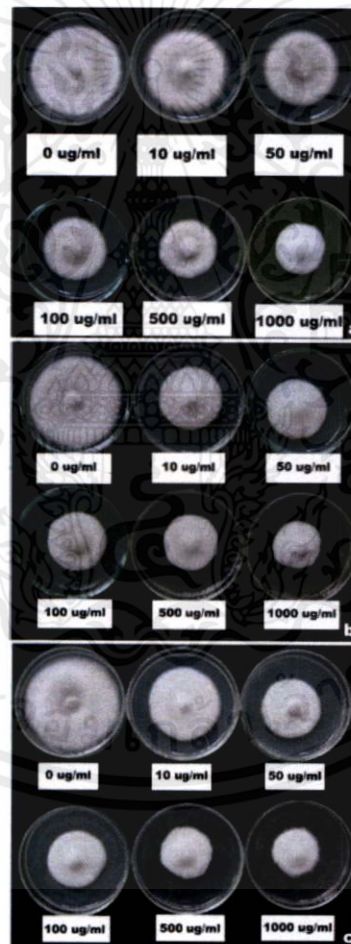
^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

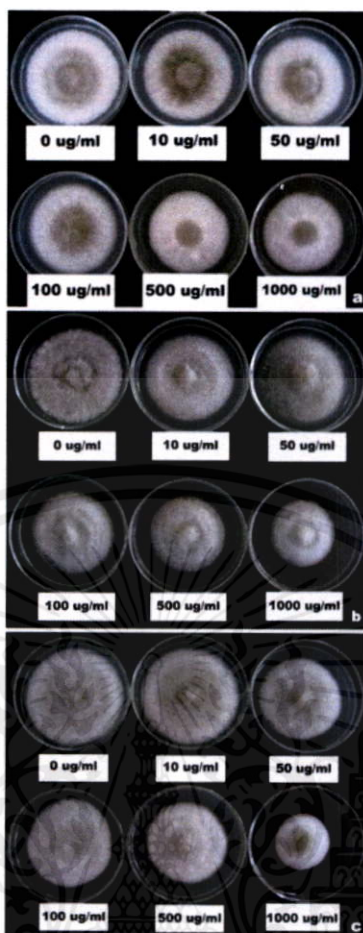
ตารางที่ 4.24 ค่า ED₅₀ ของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Emericella nidulans* ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

ไอโซเลท	ED ₅₀ ของโคโลนี (µg/ml)			ED ₅₀ ของการสร้างสปอร์ (µg/ml)		
	Hexane	Ethyl acetate	Methanol	Hexane	Ethyl acetate	Methanol
VA8	5,055	4,388	8,328	1	0.25	1
VII	5,523	1,855	3,280	1	11	0.0024
VP8	5,249	4,922	2,910	0.007	0.004	0.0013
VS3	3,012	6,845	5,686	240	0.07	386

หมายเหตุ: VA = *Vanilla albida*; VI = *Vanilla pififera*; VP = *Vanilla planifolia* และ VS = *Vanilla siamensis*

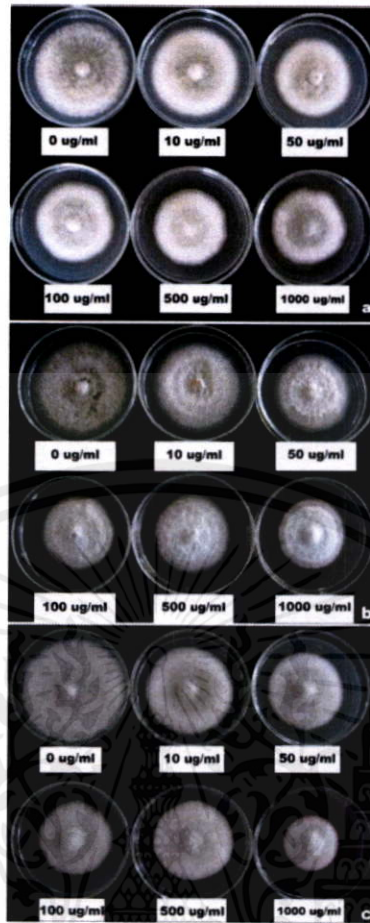


ภาพที่ 4.62 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 สาเหตุโรคเน่าเน่าบนเนื้อผลไม้ของ *Vanilla albida* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *Emericella nidulans* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (a) Hexane (b) Ethyl acetate (c) Methanol



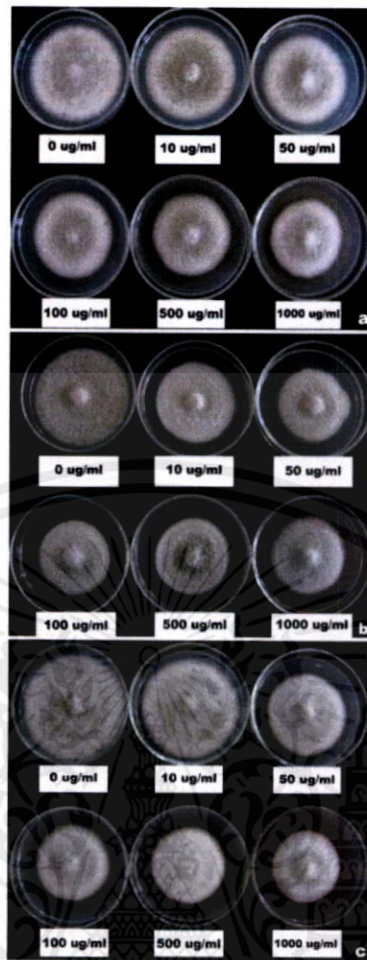
ภาพที่ 4.63 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลต VII สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla pififera* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *Emericella nidulans* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (a) Hexane (b) Ethyl acetate (c) Methanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



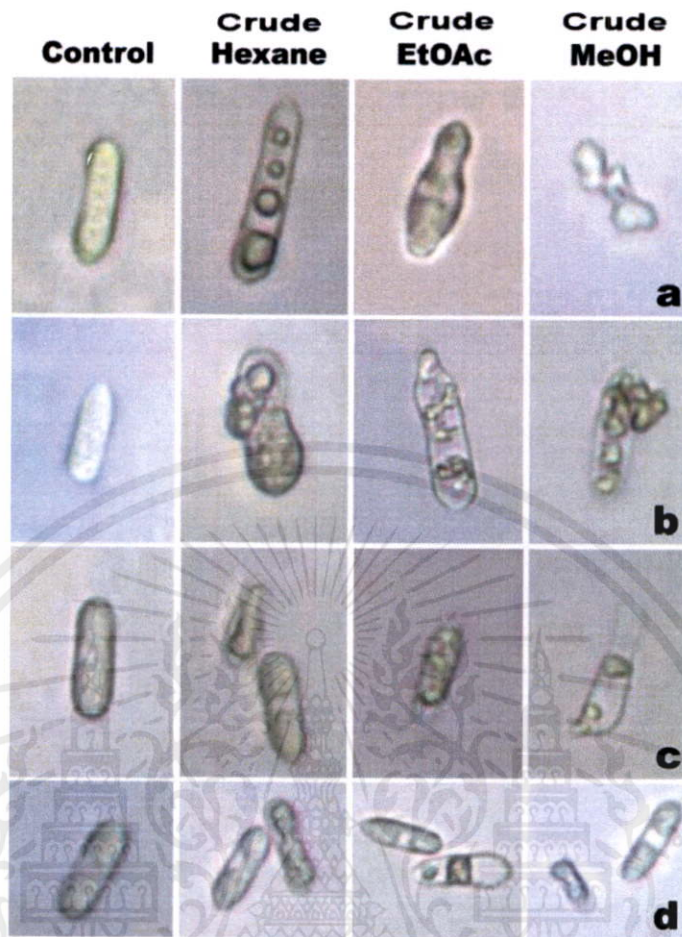
ภาพที่ 4.64 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลต VP8 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *Emericella nidulans* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (a) Hexane (b) Ethyl acetate (c) Methanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.65 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla siamensis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อราต่อต้าน *Emericella nidulans* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (a) Hexane (b) Ethyl acetate (c) Methanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.66 อิทธิพลของสารสกัดเห็ดจากเชื้อรา *Emericella nidulans* ที่มีผลต่อสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml a) VA = *Vanilla albida*; b) VI = *Vanilla pififera*; c) VP = *Vanilla planifolia* และ d) VS = *Vanilla siamensis*

4.5.3 การทดสอบควบคุมโรคแอนแทรคโนสในกระถางทดลอง

จากการทดลองการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของวานิลลาที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสไอโซเลทที่รุนแรงที่สุดของวานิลลาแต่ละสายพันธุ์แยกต่างหากจากกันลงบนต้นวานิลลาที่เพาะเลี้ยงจากกิ่งปักชำเป็นเวลา 3 เดือน โดยทำการทดลอง 5 วิธีการ คือ

T1 = วิธีการเปรียบเทียบ (control) ปลูกเชื้อสาเหตุโรคนั้น

T2 = ใช้สารสกัดเห็ดจาก *Chaetomium elatum* อัตรา 1 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร

T3 = ใช้สารสกัดเห็ดจาก *Emericella nidulans* อัตรา 1 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่ควรนำออกไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีค่าลิขสิทธิ์สงวนสิทธิ์และต้องขออนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์ก่อนนำไปใช้

T4 = ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมัน จาก *Chaetomium elatum* อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 2 ลิตร

T5 = ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมัน จาก *Emericella nidulans* อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 2 ลิตร

เมื่อทำการทดลองการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ *V. albida* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 โดยใช้เชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* หลังจากทำการทดลอง 1 เดือน พบว่า วิธีการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และวิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส คือ ที่ระดับ 1.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-10 เปอร์เซ็นต์), 1.25 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-5 เปอร์เซ็นต์), 1.25 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-5 เปอร์เซ็นต์) และ 1.00 (ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบ) ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส เท่ากับ 1.75 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-15 เปอร์เซ็นต์) โดยจะสามารถพบอาการบนใบเป็นแผลน้ำ สีนํ้าตาล ในเดือนที่ 2 พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส คือ ที่ระดับ 1.75 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-15 เปอร์เซ็นต์) และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส คือ ที่ระดับ 1.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-10 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส เท่ากับ 2.00 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์) เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เดือน พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส คือ ที่ระดับ 1.75 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-15 เปอร์เซ็นต์) และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส เท่ากับ 1.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-10 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-30 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.25 ภาพที่ 4.67)

ผลการทดลองการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ *V. pilifera* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VII โดยใช้เชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* หลังจากทำการทดลอง 1 เดือน พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส คือ ที่ระดับ 1.25 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-5 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส เท่ากับ 1.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-10 เปอร์เซ็นต์) ในเดือนที่ 2 พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ

E. nidulans มีระดับการเกิดโรค คือ 2.00 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์) และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์จากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส คือ ที่ระดับ 1.75 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-15 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.00 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์) เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เดือน พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส คือ ที่ระดับ 2.00 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-30 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.26 ภาพที่ 4.68)

ผลการทดลองการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของ *V. planifolia* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 โดยใช้เชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* หลังจากทำการทดลอง 1 เดือน พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส คือ ที่ระดับ 2.00 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์) และ การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส คือ ที่ระดับ 1.75 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-15 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ในเดือนที่ 2 พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส คือ ที่ระดับ 1.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-10 เปอร์เซ็นต์) และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส เท่ากับ 1.25 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-5 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส เท่ากับ 2.25 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-25 เปอร์เซ็นต์) และ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เดือน พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส คือ ที่ระดับ 1.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-10 เปอร์เซ็นต์) และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส เท่ากับ 1.25 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-5 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส เท่ากับ 2.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-30 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.27 ภาพที่ 4.69)

ผลการทดลองการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของ *V. siamensis* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 โดยใช้เชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* หลังจากทำการทดลอง 1 เดือน พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส

คือ ที่ระดับ 1.50 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-10 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส เท่ากับ 1.75 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-15 เปอร์เซ็นต์) ในเดือนที่ 2 พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส คือ ที่ระดับ 2.00 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส เท่ากับ 2.25 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-25 เปอร์เซ็นต์) และ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เดือน พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* และ การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส คือ ที่ระดับ 2.00 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส เท่ากับ 2.75 (พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-35 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 4.28 ภาพที่ 4.70)

ตารางที่ 4.25 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VA8 ระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}			เฉลี่ย
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	
เปรียบเทียบ (control)	1.75a ^{2/}	2.00a	2.50a	2.08
สารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Ch. elatum</i>	1.50a	1.75a	1.75ab	1.67
สารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>E. nidulans</i>	1.25a	1.75a	1.75ab	1.58
ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา <i>Ch. elatum</i>	1.25a	1.50a	1.75ab	1.50
ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา <i>E. nidulans</i>	1.00a	1.50a	1.50b	1.33
CV (%)	35.13	26.84	28.34	

^{1/} ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส (Disease Index, DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบ ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-40 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 41-60 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 61-80 เปอร์เซ็นต์ และ ระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.26 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla plicifera* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VII ระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}			เฉลี่ย
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	
เปรียบเทียบ (control)	1.50a ^{2/}	2.00a	2.50a	2.00
สารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Ch. elatum</i>	1.25a	2.00a	2.00b	1.75
สารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>E. nidulans</i>	1.25a	2.00a	2.00b	1.75
ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา <i>Ch. elatum</i>	1.25a	1.75a	2.00b	1.67
ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา <i>E. nidulans</i>	1.25a	1.75a	2.00b	1.67
CV (%)	38.46	17.32	12.29	

^{1/} ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส (Disease Index, DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบ ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-40 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 41-60 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 61-80 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.27 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VP8 ระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}			เฉลี่ย
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	
เปรียบเทียบ (control)	2.00a ^{2/}	2.25a	2.50a	2.25
สารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Ch. elatum</i>	2.00a	1.50ab	1.50b	1.67
สารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>E. nidulans</i>	1.75a	1.50ab	1.50b	1.58
ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา <i>Ch. elatum</i>	1.75a	1.50ab	1.50b	1.58
ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา <i>E. nidulans</i>	1.75a	1.25b	1.25b	1.42
CV (%)	20.34	32.77	32.26	

^{1/} ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส (Disease Index, DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบ ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-40 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 41-60 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 61-80 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

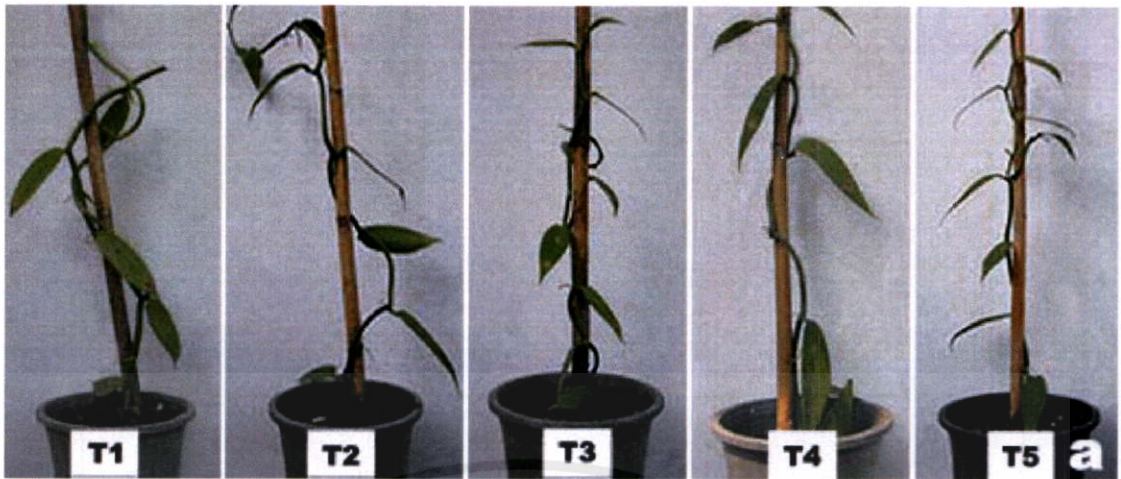
ตารางที่ 4.28 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla siamensis* ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ไอโซเลท VS3 ระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}			เฉลี่ย
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	
เปรียบเทียบ (control)	1.75a ^{2/}	2.25a	2.75a	2.25
สารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Ch. elatum</i>	1.50a	2.00a	2.00b	1.83
สารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>E. nidulans</i>	1.50a	2.00a	2.00b	1.83
ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา <i>Ch. elatum</i>	1.50a	2.00a	2.00b	1.83
ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดน้ำมันจากเชื้อรา <i>E. nidulans</i>	1.50a	2.00a	2.00b	1.83
C.V. (%)	32.25	10.90	10.40	

^{1/} ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส (Disease Index, DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบ ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 21-40 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 41-60 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ 61-80 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบ มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

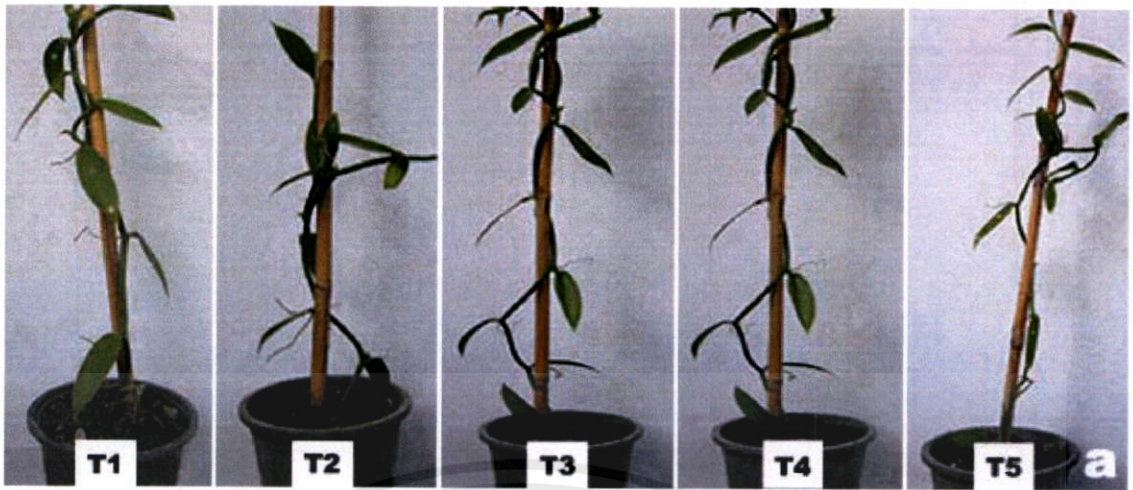


ภาพที่ 4.67 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla albida*



ภาพที่ 4.68 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla pilifera*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.69 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla planifolia*



ภาพที่ 4.70 การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ *Vanilla siamensis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลาทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* ที่ปลูกในเรือนเพาะชำบริเวณพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี และที่เรือนทดลอง ดึกเห็ดตราวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พบว่า ขนาดและใบของวานิลา มีขนาดหลากหลายและมีลักษณะที่แตกต่างกัน ซึ่งสนับสนุน Comber (1990) กล่าวว่า ขนาดใบของ *V. albida* มีความหลากหลายมาก ส่วน *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* มีรูปร่างของใบที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ทางด้านของลำต้น พบว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นจะอยู่ที่ประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร แต่จะมีวานิลาบางสายพันธุ์ ได้แก่ *V. siamensis* และ *V. planifolia* เมื่อมีอายุมากขึ้นเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นก็จะมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งอาจมีขนาดถึง 2.5 เซนติเมตร ทางด้านราก วานิลาทุกสายพันธุ์จะมีระบบรากเหมือนกัน คือ ระบบรากอากาศ และ รากที่เจริญลงดินเพื่อดูดซับธาตุอาหาร และ รากจะเจริญออกตรงข้อตรงข้ามกับใบ ทางด้านลักษณะของดอก ในช่วงเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์ ที่แปลงปลูกวานิลา พระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี พบว่า วานิลามีการออกดอกเพียง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia* และ *V. aphylla* ส่วน *V. siamensis* ยังไม่มีการออกดอกระหว่างการทดลอง ซึ่งลักษณะของดอกนั้นแตกต่างอย่างเห็นได้ชัด สามารถนำมาใช้จัดจำแนกได้ และพบว่าวานิลามีการออกดอกเพียงปีละครั้ง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วราวุธ ชูธรรมรัช (2536) กล่าวว่า วานิลาที่ปลูกแซมในสวนมะพร้าวที่ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร มีการออกดอกปีละครั้ง ในช่วงเดือนมกราคมถึงเมษายน และ ในช่วงระยะเวลาวิจัยมีวานิลาบางสายพันธุ์ยังไม่มีการออกดอก นอกจากนี้ยังพบว่า วานิลาทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ออกดอกที่พระตำหนักสวนปทุม บางช่อดอกพบว่าไม่มีการติดฝัก ซึ่งรายงานของกลุ่มพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ (2543) กล่าวว่า ดอกของวานิลาจำเป็นต้องช่วยผสมเกสร มิฉะนั้นจะไม่ติดฝัก เนื่องจากดอกของวานิลาไม่สามารถผสมเกสรด้วยตัวเองได้ ช่วงเวลาที่เหมาะต่อการผสมเกสรคือ ช่วงเช้า และในคืนเดียวกันควรผสมไม่เกิน 10-12 ช่อ และเด็ดาดอกที่เหลือทิ้ง เพื่อไม่ให้แย่งอาหารกัน

จากการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลาทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* โดยศึกษาเชื้อรา 3 ประเภท คือ เชื้อรา endophyte, epiphyte และ saprophyte จากการทดลองพบเชื้อรา endophyte จำนวน 301 ไอโซเลท ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะพบเชื้อรา *Phyllosticta* spp., *Chaetomium* spp. และ *Alternaria* spp. เชื้อรา epiphyte จำนวน 175 ไอโซเลท โดยส่วนใหญ่จะพบเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. และ เชื้อรา saprophyte จำนวน 43 ไอโซเลท โดยส่วนใหญ่จะพบเชื้อรา *Verticillium* spp.,

Alternaria spp., *Chaetomium* spp., *Gliocladium* spp., *Memmoniella* spp. และ *Acremonium* spp. ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานของ เลขามาโนช และคณะ (2544) ที่ว่า พบรา endophyte ในใบกล้วยไม้ดิน 3 สายพันธุ์ และเชื้อราที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ *Colletotrichum*, *Nodulosporium* และ *Xylariaceae* และ Photita et al. (2001) พบเชื้อรา endophyte จากกล้วยป่า (*Musa acuminata*) จำนวน 61 ไอโซเลท โดยเชื้อราส่วนใหญ่ที่พบ คือ Xylariaceous taxa, *Colletotrichum musae*, *C. gloeosporioides*, *Guignardia cocoicola* และ sterile mycelia ซึ่งแยกได้จากเนื้อเยื่อกล้วยที่แก่มากกว่าเนื้อเยื่อกล้วยอ่อน ในขณะที่ Fröhlich et al. (2000) พบเชื้อรา endophyte จากปาล์ม จำนวน 60 ไอโซเลท โดยเชื้อราส่วนใหญ่ที่พบ คือ Xylariaceous species นอกจากนี้ ยังพบเชื้อรา *Acremonium* sp., *Alternaria alternata*, *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Chaetomella* sp., *Phomopsis* sp. และ *Phyllosticta* sp. ที่แยกได้จากลำต้นของ *Cuscuta reflexa* (Suryanarayanan et al. 2000) นอกจากนี้ Seena and Sridhar (2004) รายงานว่า เชื้อราส่วนใหญ่ที่แยกได้จากราก ลำต้น และ ใบ ของ *Canavalia maritima* และ จากรากของ *C. cathartica* คือ เชื้อรา *Ch. globosum* มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และ Tejesvi et al. (2005) พบเชื้อราในกลุ่ม *Pestalotiopsis* (54.5 เปอร์เซ็นต์) *Chaetomium* (10.5 เปอร์เซ็นต์) และ *Myrothecium* (9 เปอร์เซ็นต์) ที่แยกได้จากเปลือกไม้และกิ่งไม้ของต้น *Terminalia arjuna* Brown et al. (1998) ได้พบเชื้อรา endophyte จากต้น *Musa acuminata* ซึ่งแยกได้จำนวน 24 taxa โดยส่วนใหญ่จะพบเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis palmarum*, *Nigrospora oryzae*, *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata*, *Phomopsis* sp. และ *Phyllosticta musicola* Azevedo and Welty (1995) ได้พบเชื้อรา endophyte *Acremonium coenophialum* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของรากในต้นอ่อนของหูกวางเลี้ยงสัตว์ พบว่า เชื้อรา *A. coenophialum* ทำให้รากมีการเจริญเติบโต และ Toofanee and Dulyamode (2002) พบเชื้อรา *Acremonium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Moniliella*, *Nigrospora*, *Pestalotiopsis* และ *Penicillium* เป็นส่วนใหญ่

อย่างไรก็ตาม มีผู้พบเชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แยกได้จากใบของต้นมะเขือเทศ เป็นส่วนใหญ่ (Larran et al. 2001) และ George et al. (2005) พบเชื้อรา endophyte *Trichoderma*, *Penicillium* และ *Pestalotiopsis* spp. เป็นส่วนใหญ่ เชื้อราอื่นที่พบ เช่น *Phyllosticta*, *Phomopsis*, *Xylaria*, *Chaetomium*, *Cladosporium* และ *Fusarium* Suryanarayanan and Vijaykrishna (2001) พบเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phomopsis* sp., *Phyllosticta* sp., *Aspergillus* sp., *Gliocladium* sp., *Paecilomyces* sp., *Trichoderma* sp. และ sterile mycelia และมีผู้รายงานว่า เชื้อรา *Guignardia* sp. มีเชื้อรา *Phyllosticta* เป็น imperfect stage ซึ่งเป็นเชื้อรา endophyte ที่พบมาก โดยก่อนหน้านี้มีรายงานเกี่ยวกับเชื้อรา *Guignardia* ว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคในกล้วยไม้ (Okane et al. 2001) และ Johnston (1998) พบเชื้อรา *Phyllosticta* ในใบของ *Leptospermum scoparium* เป็นส่วนใหญ่ Santamaria and Bayman (2005) กล่าวว่า เชื้อรา

endophyte ที่พบบ่อยในพืช เช่น *Pestalotia*, *Botryosphaeria*, *Xylaria*, *Colletotrichum*, *Guignardia*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* และ *Trichoderma* ซึ่งเชื้อราเหล่านี้พบกระจายตัวอยู่ทั่วไปในพืชเขตร้อน

จะสังเกตได้ว่าเชื้อรา endophyte ที่พบ บางไอโซเลทเป็นเชื้อก่อโรคในพืช เช่น *Colletotrichum*, *Alternaria* และ *Fusarium* เป็นต้น George *et al.* (2005) กล่าวว่า เชื้อราพวกนี้อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงตัวเอง โดยการกลายพันธุ์ไปเป็นเชื้อราที่ไม่ก่อโรคซึ่งก็คือ endophyte นั่นเอง

และมีรายงานเกี่ยวกับเชื้อรา epiphyte ว่าเชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Trichoderma harzianum* เป็นเชื้อรา epiphyte ที่พบบริเวณเปลือกไม้ของต้นพืช พบว่าเชื้อราทั้ง 2 ตัวนี้จะคอยป้องกันและซ่อมแซมเปลือกไม้ที่เป็นแผล (Biggs and Alm. 1992) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ และ รายงานของ Witting *et al.* (1997) พบว่าเชื้อรา epiphyte *Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum purpurascens* และ *Gliocladium roseum* มีประสิทธิภาพในการลดการเกิด brown rot blossom blight ของเชอร์รี่หวาน (*Prunus avium* L.) ที่เกิดจากเชื้อรา *Monilinia fructicola* Santamaria and Bayman (2005) รายงานว่า พบเชื้อรา epiphyte จำนวน 481 โคลนี และ เชื้อราโดยส่วนใหญ่ที่พบ คือ *Cladosporium* spp. และ *Trichoderma* spp. ในทำนองเดียวกัน เชื้อรา saprophyte ก็มีรายงานว่า พบเชื้อรา *Acremonium*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Guignardia*, *Mucor* และ *Stachybotrys* เป็นต้น (Hyde *et al.* 2002) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wang *et al.* (2008) ที่พบเชื้อรา *Colletotrichum*, *Stachybotrys*, *Beltraniella nilgirica*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Ophioceras leptosporum*, *Periconia byssoides* และ *Septonema harknessi* จากใบของ *Ficus* ที่หล่นลงจากต้น

จากการศึกษาการระบาดของโรคแอนแทรกโนสของวานิลาทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia* และ *V. siamensis* พบว่า โดยส่วนใหญ่โรคจะเกิดที่ส่วนใบของวานิลา ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ratanacherdchai and Soyong (2004) ; Divakaran *et al.* (2008) รายงานว่า เชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนสของวานิลาคือ *Colletotrichum* spp. และ George (1973) ได้รายงานไว้เช่นเดียวกันว่าโรคแอนแทรกโนสเป็นโรคที่สำคัญของวานิลา ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Glomerella vanillae* (Zimm.) Petch & Ragun ซึ่งเป็นพวกสืบพันธุ์แบบใช้เพศหรือชั้นสมบูรณของเชื้อรา (Telemorph) *Colletotrichum* sp. จะเข้าทำลายที่ใบและลำต้นของวานิลา ในขณะที่ Sasikumar *et al.* (1992) รายงานว่า พบโรคแอนแทรกโนสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Calospora vanillae* กับวานิลาที่ประเทศอินเดีย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยเคมีต่อการเจริญเติบโตของต้นวานิลา พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ในระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ทำให้ต้นวานิลาทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* มีการเจริญเติบโตในด้านความยาวของเถา จำนวนใบที่เกิดและจำนวนตาที่แตกใหม่ มีมากกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 ซึ่ง วราวุธ ชูธรรมรัช

(2536) กล่าวว่า เมื่อบริการเริ่มมีการเจริญเติบโต ควรจะมีการให้ปุ๋ยเคมี เช่น สูตร 15-15-15 หรือ สูตร 13-13-21 เพื่อเร่งการเจริญเติบโต และอาจมีการให้ปุ๋ยทางใบ เช่น ไฟฟอลาน เสริมด้วยอีกทาง และนอกจากนั้นควรมีการใส่ปุ๋ยคอกเพื่อช่วยให้ดินมีการระบายน้ำดี ทำให้วานิลามีการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปิยะวุฒิ พูลสงวน (2535) ได้ทดลองปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ในอัตราต่างๆ ได้แก่ 0 50 100 และ 150 กก./ไร่ เก็บเกี่ยวที่อายุ 8 และ 12 เดือน โดยใช้มันสำปะหลัง 4 พันธุ์ คือ ระยะเวลา 1 ระยะของ 60 ศรีราชา 1 และ เกษตรศาสตร์ 50 พบว่า พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ให้ผลผลิตหัวสด ผลผลิตหัวแห้ง สูงสุดทุกระดับปุ๋ย และอายุการเก็บเกี่ยวก็ไม่มี ความแตกต่างทางด้านปริมาณผลผลิต และรายงานของ Rautaray *et al.* (2003) พบว่า fly ash, ของเสียจากอินทรีย์วัตถุ (Organic wastes) และ ปุ๋ยเคมี ถ้าหากใช้ผสมกันจะทำให้มีการปรับปรุงผลผลิตของพืชผลมากขึ้น และค่า pH ของดิน ก๊าซคาร์บอนและการนำไปใช้ของก๊าซใน ไตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียมในดินทรายที่เป็น กรด ดินที่มีสีแดง

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อราต่อต้าน *Chaetomium elatum* และ *Emericella nidulans* กับ เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8, VII, VP8 และ VS3 ด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อรา *Ch. elatum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ เท่ากับ 46.11, 46.67, 44.72 และ 48.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ ยับยั้งปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้ เท่ากับ 98.05, 90.16, 95.25 และ 79.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อภิรัตน์ สมารักษ์ และ เกษม สร้อยทอง (2545) รายงานว่า มีการใช้จุลินทรีย์คีโตเมียมควบคุมโรคแอนแทรกโนสของ ปาล์ม ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่า ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมเมื่อนำมาทดสอบโดยการ เลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA กับเชื้อราสาเหตุโรค ปรากฏว่า ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมสามารถยับยั้ง การเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* PD12 ได้ 60.55 และ 83.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และรายงานของ Naik *et al.* (2009) รายงานไว้ว่า เชื้อรา *Ch. globosum* มี เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคมากที่สุด ได้แก่ เชื้อรา *Nigrospora oryzae* (64.29 เปอร์เซ็นต์), *Rhizoctonia solani* (62.13 เปอร์เซ็นต์), *Alternaria alternata* (62.15 เปอร์เซ็นต์) และ *Phoma sorghina* (61.11 เปอร์เซ็นต์) และงานวิจัยของ Fen and Jie (2005) พบว่า การทดสอบโดยวิธี dual culture โดยใช้เชื้อรา *Ch. spirale* ND35 ควบคุมเชื้อรา *Valsa ceratosperma* สาเหตุโรคแคงเกอร์ในแอปเปิ้ล ซึ่ง *Ch. spirale* ND35 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อราสาเหตุโรคถึง 78.46 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *E. nidulans* ที่ทำการทดสอบเลี้ยงเชื้อร่วมบน อาหาร PDA กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8, VII, VP8 และ VS3 พบว่า สามารถ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ เท่ากับ 46.67, 46.94, 46.11 และ 46.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุได้ เท่ากับ 42.75, 16.38, 36.35 และ 42.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sibounnavong *et al.* (2008) ที่รายงานว่า เชื้อรา

เอกสารนี้เป็น
ไม่ว่ากรณีใด

E. nidulans strain EN สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรค Fusarium wilt ของมะเขือเทศได้

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. elatum* และ *E. nidulans* ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8, VII, VP8 และ VS3 พบว่า สารสกัดหยาบจาก *Ch. elatum* โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถควบคุมการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ทุกไอโซเลท เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 0 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ กัญชลิกา รัตนเชิดฉาย (2548) ที่ว่า มีการใช้สารสกัดรวม (Crude extract's mixture) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน ผสมกับอาหาร PDA เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของวานิลลา *C. gloeosporioides* พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm. มีการเจริญเติบโตของเชื้อราน้อยที่สุด และ มีการสร้างสปอร์น้อยที่สุด และ งานของ Aggarwal *et al.* (2004) พบว่ามีการใช้สาร antifungal metabolites ที่สร้างจาก *Ch. globosum* ไอโซเลท cg2 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเชื้อรา *Cochliobolus sativus* สาเหตุโรค spot blotch ของข้าวสาลี ควบคุมได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือน และงานวิจัยของ Soyong *et al.* (2005) ที่พบว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* KMITL44 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* strain WMF01 โดยมีค่า ED_{50} ระหว่าง 1 ถึง 50 ppm. และพบว่าสารสกัด หยาบจาก *Ch. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอน แทรคโนสของส้มได้ เช่นเดียวกัน (พรพรรณ อยู่สุวรรณ. 2544) และนอกจากนี้มีการนำสารสกัด หยาบไปสกัดเป็นสารบริสุทธิ์ (pure compound) เช่น Rotiorinol ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์จาก *Ch. cupreum* พบว่า สารดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสขององุ่นได้ (วิไลรัตน์ ศรีนนท์ และ เกษม สร้อยทอง. 2545) มีรายงานว่า สารบริสุทธิ์ที่ได้จาก *Ch. globosum* พบว่า เป็นสารปฏิชีวนะชื่อว่า chaetoglobosin C และเมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติของสาร ปรากฏว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้ม โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 178 ppm. และ สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราดังกล่าว ซึ่งมีค่า ED_{50} เท่ากับ 0.09 ppm. (Kanokmedhakul *et al.* 2004) และจากรายงานของ Park *et al.* (2005) พบว่า สารปฏิชีวนะ ชื่อ chaetoviridin A และ B ที่ได้จาก *C. gloeosporioides* strain F0142 สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค rice blast (*Magnaporthe grisea*) และ wheat leaf rust (*Puccinia recondita*) ได้ทั้งในห้องปฏิบัติการและใน เรือนทดลอง ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากจุลินทรีย์ต่อต้าน *E. nidulans* ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8, VII, VP8 และ VS3 ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอน แทรคโนสในวานิลลา จากการทดลอง พบว่า สามารถควบคุมการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์

ของเชื้อราสาเหตุได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sibounnavong *et al.* (2008) ที่รายงานว่า สารบริสุทธิ์ที่ได้จาก *E. nidulans* strain EN สามารถยับยั้ง การสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 211 $\mu\text{g/ml}$ และรายงานของ Moosophon *et al.* (2009) กล่าวว่า มีการนำสาร สกัดหยาบ hexane และ ethyl acetate ของเชื้อรา *E. nidulans* ไปหาล่องประกอบทางเคมี ปรากฏว่า จากสารสกัดหยาบ hexane ได้ 5 สาร คือ epishamizanthone, shamixanthone, emericellin, ergosta-6, 22-diene-3-ol-5, 8-epidioxy-(3 β -5 α , 22E) และ sterigmatocystin และ สารสกัดหยาบ ethyl acetate แยกได้ 1 สาร คือ demethylsterigmatocystin พบว่า สาร sterigmatocystin สามารถต่อต้านการเกิด เซลล์มะเร็งได้ดีที่ IC_{50} เท่ากับ 0.142 $\mu\text{g/ml}$ ในทำนองเดียวกัน อาจเป็นไปได้ว่า สารที่แยกได้เหล่านี้ อาจส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยวานิลาทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* ที่ปลูกในเรือนเพาะชำบริเวณพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี และ ที่เรือนทดลอง ดึกเห็ดราวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พบว่า มีวานิลา 4 สายพันธุ์ที่ออกดอก ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, และ *V. aphylla* ในช่วงเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์ ส่วน *V. siamensis* ยังไม่มีการออกดอกในระหว่างการทดลอง และ มีการเกิดโรคแอนแทรกคโนส ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* กับวานิลา 4 สายพันธุ์ คือ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia* และ *V. siamensis* สำหรับการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรกคโนสโดยวิธี detached leaves พบว่า เชื้อราสาเหตุไอโซเลท VA8, VII, VP8 และ VS3 ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดกับ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia* และ *V. siamensis* ตามลำดับ จากการศึกษาค้นคว้าหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับวานิลาทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* โดยศึกษาเชื้อรา 3 ประเภท คือ เชื้อรา endophyte, epiphyte และ saprophyte จากการแยกเชื้อรา endophyte พบเชื้อราจำนวน 301 ไอโซเลท เชื้อรา epiphyte จำนวน 31 ไอโซเลท และ เชื้อรา saprophyte 43 ไอโซเลท ซึ่งเชื้อราส่วนใหญ่ที่พบบ่อยจะอยู่ในกลุ่ม Deuteromycotina และ Ascomycotina การทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยเคมีต่อการเจริญเติบโตของต้นวานิลา พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ในระยะเวลา 3 เดือน ทำให้ต้นวานิลาทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. albida*, *V. pilifera*, *V. planifolia*, *V. siamensis* และ *V. aphylla* มีการเจริญเติบโตในด้านการขยายของเถา จำนวนใบที่เกิดและจำนวนตาที่แตกใหม่ มีมากกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 8-24-24 ในส่วนของการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราต่อต้าน ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท VA8, VII, VP8 และ VS3 สาเหตุโรคแอนแทรกคโนสของวานิลา บนอาหาร PDA ด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม พบว่า เชื้อรา *Chaetomium elatum* ลดปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้แตกต่างทางสถิติ ส่วนสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* พบว่า เชื้อรา *Ch. elatum* มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญเติบโตและลดปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ทุกไอโซเลท โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความเข้มข้น 0 µg/ml และยังทำให้สปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เกิดความผิดปกติ โดยสปอร์มีการบิดเบี้ยว หรือ เซลล์มีการแตกสลาย ส่วนสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* จากการทดลองพบว่า ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและลดปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทุกไอโซเลท ใกล้เคียงกับเชื้อรา *Ch. elatum*

เอกสารนี้เป็นของสำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ นครเชียงใหม่ ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอก ลงมือทำ และห้องอ้างอิงใดๆ ของเอกสารทุกฉบับที่มีการนำใบใช้

ซึ่งพบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ เพอร์เซ็นต์ ใน ส่วนของการทดลองในกระถาง โดยวิธีผสมสารสกัดหยาบจากสารละลาย 3 ตัว และ สปอร์ แชนวอลอยที่ผสมกับน้ำมันปาล์ม (สูตรน้ำมัน) ของเชื้อราต่อต้านแต่ละตัว ซึ่งนำมาทดสอบในการ ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *C. gloeosporioides* ทั้ง 4 ไอโซเลท ทดสอบกับวานิลลา 4 สายพันธุ์ พบว่า สารสกัดหยาบผสม และ สปอร์แชนวอลอย (สูตรน้ำมัน) จากเชื้อราต่อต้านทั้ง 2 ตัว ให้ผลในการลดลงของโรคแอนแทรกโนสของเชื้อราไอโซเลทที่นำมาทดสอบแตกต่างกัน จากการ ทดลองมีข้อเสนอแนะว่า การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรกโนส ด้วยเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* โดยวิธีเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม และ วิธีใช้สารสกัดหยาบ แสดงให้เห็นว่าการ ใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. elatum* และ *E. nidulans* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีกว่าวิธีการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม ดังนั้นควรมีการศึกษาและวิจัย เกี่ยวกับการนำสารสกัดหยาบที่ได้จากเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสามารถป้องกันกำจัดโรคพืช ต่อไป และพัฒนา เพื่อจะได้นำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กลุ่มพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ. 2543. คู่มือสมุนไพรและเครื่องเทศ ชุดที่ 4 เครื่องเทศ. กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร.
- กัญชวลิกา รัตนเชิดฉาย. 2548. “การใช้เชื้อราต่อต้านและชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรกคโนสของวานิลลา.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เกษม สร้อยทอง. 2548. เทคโนโลยีการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biocontrol Technology of Plant Disease). พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เกษม สร้อยทอง. 2551. เทคโนโลยีการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biocontrol Technology of Plant Disease). พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- โชคชัย ไชยมงคล. 2534. “การศึกษาปุ๋ยและปัจจัยแวดล้อมต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมันฝรั่ง.” วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 8(2) : 32-39.
- เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.
- ดิรัตน์ สมารักษ์ และเกษม สร้อยทอง. 2545. “การใช้จุลินทรีย์คีโตเมียมควบคุมโรคแอนแทรกคโนสของปาล์มโดยชีววิธี.” หน้า 19-20. ใน การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3. นครราชสีมา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- ชารทิพย์ เพชรบูรณิน. 2549. “ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการพัฒนาตาข้างของวานิลลา.” วารสารวิชาการเกษตร. 24(1) : 97-105.
- ประสาร พรหมสูงวงศ์ เสถียร พิมพ์สาร สุทิน คล้ายมนต์ และไพโรจน์ พันธุ์พุกภัย. 2540. “การใช้ปุ๋ยเคมีกับพืชไร่ในเขตชลประทานจังหวัดชัยนาทและพิษณุโลก.” วารสารดินและปุ๋ย. 19(3) : 113-120.
- ปิยะ เฉลิมกลิ่น จิรพันธุ์ ศรีทองกุล และอนันต์ พิริยะภัทรกิจ. 2550. คู่มือดูพรรณไม้ป่าสะแกราช เล่ม 1. ปทุมธานี : ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.).
- ปิยะวุฒิ พูลสงวน. 2535. “อิทธิพลของปุ๋ยและอายุเก็บเกี่ยวต่อผลผลิตมันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆ.” หน้า 17-20. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขาพืช. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยและเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ การค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีลิขสิทธิ์และสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาบางส่วนที่ปรากฏในเอกสารฉบับนี้

พรพรรณ อุ่สุวรรณ. 2544. “การควบคุมโดยชีววิธีและการจัดการโรคส้มแบบผสมผสาน.”
วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Soil Fertility). กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
เลขา มาโนช ภัยญา เจริญไทย คณิงนิจ บุศราคำ พรพิมล อธิปัญญาคม อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และอรอุมา
เจียมจิตต์. 2544. “เชื้อราโรคพืช รา endophyte และราดินในประเทศไทย.” หน้า.502-
510. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาพืช.
กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราวุธ ชูธรรมรัช. 2536. “วานิลลา - Vanilla.” เอกสารวิชาการ. ชุมพร : ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร
สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

วิเชียร ดีทอง เกษม สร้อยทอง และสมเดช กนกเมธากุล. 2543. “การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า
ของส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco cv. *Shogun*) โดยชีววิธีแบบผสมผสาน.”
วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 17(2) : 31-42.

วิไลรัตน์ ศรีนนท์ และเกษม สร้อยทอง. 2545. “การใช้เชื้อราต่อต้านในการควบคุมการเกิดโรค
แอนแทรคโนสขององุ่น.” หน้า 21-22. ใน การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับ
บัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3. นครราชสีมา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สันติภาพ ปัญงพรรค์ เริงศักดิ์ กตเวทิน ประพนธ์ ศรีสถาพร ประพันธ์ ศรีจันทร์ มาระตรี สุขวัฒน์
สมบัติ และสุรศักดิ์ ประชันกาญจนา. 2532. “การใช้สารอินทรีย์และปุ๋ยเคมี ในการ
ปรับปรุงคุณสมบัติและธาตุอาหารของดิน เพื่อเพิ่มผลผลิตและเพิ่มพูนรายได้ จากการ
ปลูกข้าวโพดหวานของเกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.” รายงานการวิจัย.
องค์การบริหารวิเทศกิจแห่งสหรัฐอเมริกา (USAID) และสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุมิตราน้อยเอี่ยม. 2540. “การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์โดยชีววิธี
แบบผสมผสาน.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย,
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เสาวภาคย์ สุวรรณพงษ์. 2547. “การศึกษากลไกการควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศและโรคแอน
แทรคโนสของส้ม.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการ
ศัตรูพืช บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

แสงมณี ชิงดวง เอียน สีลาน้อย ศรีสุวรรณค์ ลิขิตเอกสาร สมถวิล ศศิพลิน และเสริมศักดิ์ รักษธรรม.

2536. “โรคเน่าดำของวานิลลา.” เกษตรการเกษตร. 17(5) : 170-172.

แสงมณี ชิงดวง. 2539. “การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยใช้สมุนไพร.” ข่าวสารกองโรคพืชและจุล
ชีววิทยา. 16(2) : 32-34.

- แสงมณี ชิงดวง ประเสริฐ เครื่องเปี่ยม และสุชาติ วิจิตรานนท์. 2540. “ผลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่มีต่อเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าดำของวานิลลา.” วารสารโรคพืช. 12 : 13-25.
- อบฉันทน์ ไทยทอง. 2543. กล้วยไม้เมืองไทย. กรุงเทพฯ : บ้านและสวน.
- Aggarwal, R., Tewari, A.K., Srivastava, K.D. and Singh, D.V. 2004. “Role of Antibiosis in the Biological Control of Spot Blotch (*Cochliobolus sativus*) of Wheat by *Chaetomium globosum*.” *Mycopathologia*. 157 : 369-377.
- Agrios, G.N. 2005. **Plant Pathology**. 5th ed. Elsevier academic.
- Ames, O. and Correll, D.S. 1985. **Orchids of Guatemala and Belize**. New York : Dover Publications, Inc.
- Azevedo, M.D. and Welty, R.E. 1995. “A Study of the Fungal Endophyte *Acremonium coenophialum* in the Roots of Tall Fescue Seedlings.” *Mycologia*. 87(3) : 289-297.
- Bankole, S.A. and Adebajo, A. 1996. “Biocontrol of Brown Blotch of Cowpea Caused by *Colletotrichum truncatum* with *Trichoderma viride*.” **Crop Protection**. 15(7) : 633-636.
- Bayman, P., Lebrón, L.L., Tremblay, R.L. and Lodge, D.J. 1997. “Variation in Endophytic Fungi from Roots and Leaves of *Lapantes* (Orchidaceae).” **New Phytology**. 135 : 143-149.
- Besse, P., Silva, D.D., Bory, S., Grisoni, M., Bellec, F.L. and Duval, M.F. 2004. “RAPD Genetic Diversity in Cultivated Vanilla : *Vanilla planifolia*, and Relationships with *V. tahitensis* and *V. pompona*.” **Plant Science**. 167 : 379-385.
- Bhai, R.S. and Thomas, J. 2000. “Phytophthora Rot a New Disease of Vanilla (*Vanilla planifolia* Andr.) in India.” **Journal of Spices and Aromatic Crops**. 9(1) : 73-75.
- Biggs, A.R. and Alm, G.R. 1992. “Response of Peach Bark Tissues to Inoculation with Epiphytic Fungi Alone and in Combination with *Leucostoma cincta*.” **Canadian Journal of Botany**. 70 : 186-191.
- Bokhtiar, S.M. and Sakurai, K. 2003. “Effect of Application of Inorganic and Organic Fertilizers on Growth, Yield and Quality of Sugarcane.” **Sugar Technology**. 7(1) : 33-37.
- Boontim, N. and Lamyong, S. 1998. “Some Metabolites of Endophytic Fungi are Potent Inhibitors of Bacterial and Fungal Growths.” **Thaksin Journal**. 1(2) : 89-92.

- Brown, K.B., Hyde, K.D. and Guest, D.I. 1998. "Preliminary Studies on Endophytic Fungal Communities of *Musa acuminata* Species Complex in Hong Kong and Australia." **Fungal Diversity**. 1 : 27-51.
- Bythrow, J.D. 2005. "Vanilla as a Medicinal Plant." **Seminars in Integrative Medicine**. 3 : 129-131.
- Capdeville, G.D., Souza Jr.M.T., Santos, J.R.P., Miranda, S.D.P., Caetano, A.R. and Torres, F.A.G. 2007. "Selection and Testing of Epiphytic Yeasts to Control Anthracnose in Post-Harvest of Papaya Fruit." **Scientia Horticulturae**. 111(2) : 179-185.
- Coleman, D.C., Reid, C.P.P. and Cole, C.V. 1983. "Biological Strategies of Nutrient Cycling in Soil Systems." [Online]. Available : [http://md1.csa.com. \(24/10/2552\)](http://md1.csa.com. (24/10/2552)).
- Comber, J.B. 1990. **Orchids of Java**. Bangkok. Charoen Silp Press.
- Ding, G., Song, Y.C., Chen, J.R., Xu, C., Ge, H.M., Wang, X.T. and Tan, R.X. 2006. "Chaetoglobosin U, a Cytochalasan Alkaloid from Endophytic *Chaetomium globosum* IFB-E019." **Journal of Natural Products**. 69(2) : 302-304.
- Divakaran, M., Babu, K.N. and Peter, K.V. 2006. "Conservation of *Vanilla* species, *In vitro*." **Scientia Horticulturae**. 110 : 175-180.
- Divakaran, M., Pillai, G.S., Babu, K.N. and Peter, K.V. 2008. "Isolation and Fusion of Protoplasts in *Vanilla* species." **Current Science**. 94(1) : 115-120.
- Dong, K.W., Guan, Z.Y., Jie, F.B., Zeng, H.X., Lei, Z. and Zheng, H.J. 2008. "Effect of Long-Term Application of Chemical Fertilizers on Microbial Biomass and Functional Diversity of a Black Soil." **Pedosphere**. 18(6) : 801-808.
- Fen, X.Y. and Jie, S.J. 2005. "Bio-Control Trials of *Chaetomium spirale* ND35 Against Apple Canker." **Journal of Forestry Research**. 16(2) : 121-124.
- Fisher, P.J., Petrini, O., Petrini, L.E. and Sutton, B.C. 1994. "Fungal Endophytes from the Leaves and Twigs of *Quercus ilex* L. from England, Majorca and Switzerland." **New Phytology**. 127 : 133-137.
- Fröhlich, J., Hyde, K.D. and Petrini, O. 2000. "Endophytic Fungi Associated with Palms." **Mycological Research**. 104(10) : 1202-1212.
- Gang, X.M., Chu, L.D., Mei, L.J., Zhu, Q.D., Yagi, K. and Hosen, Y. 2008. "Effects of Organic Manure Application with Chemical Fertilizers on Nutrient Absorption and Yield of Rice in Human of Southern China." **Agricultural Science in China**. 7(10) : 1245-1252.

- Ganley, R.J. and Newcombe, G. 2006. "Fungal Endophytes in Seeds and Needles of *Pinus monticola*." **Mycological Research**. 110 : 318-327.
- George, F.N. 1973. **Bacterial and Fungi Disease of Plants in the Tropics**. U.S.A. : University of Florida Press.
- George, K.J., Ganga, G., Varma, R.S., Sasikumar, B. and Saji, K.V. 2005. "Endophytic Mycoflora of Inner Bark of *Azadirachta indica* A. Juss." **Current Science**. 88(2) : 218-219.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N. 1995. **Dictionary of the Fungi**. Eighth Edition. CAB International.
- <http://www.Trademap.net> 8/1/2553.
- Hyde, K.D., Zhou, D.Q., Mckenzie, E.H.C., Ho, W.H. and Dalisay, T. 2002. "Vertical Distribution of Saprobic Fungi on Bamboo Culms." **Fungal Diversity**. 11 : 109-118.
- Inácio, M.L., Silva, G.H., Teles, H.L., Trevisan, H.C., Cavalheiro, A.J., Bolzani, V.D.S., Young, M.C.M., Pfenning, L.H. and Araújo, Á.R. 2006. "Antifungal Metabolites from *Colletotrichum gloeosporioides*, an Endophytic Fungus in *Cryptocarya mandioccana* Nees (Lauraceae)." **Biochemistry System Ecology**. 34 : 822-824.
- Istifadah, N., Saleeba, J.A. and McGee, P.A. 2006. "Isolates of Endophytic *Chaetomium* spp. Inhibit the Fungal Pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* in vitro." **Canadian Journal of Botany**. 84(7) : 1148-1155.
- Jiao, R.H., Xu, S., Liu, J.Y., Ge, H.M., Ding, H., Xu, C., Zhu, H.L. and Tan, R.X. 2006. "Chaetominine, a Cytotoxic Alkaloid Produced by Endophytic *Chaetomium* sp. IFB-E015." **Organic Letters**. 8(25) : 5709-5712.
- Johnston, P.R. 1998. "Leaf Endophytes of Manuka (*Leptospermum scoparium*)." **Mycological Research**. 102(8) : 1009-1016.
- Kango, N., Agrawal, S.C. and Jain, P.C. 2003. "Production of Xylanase by *Emericella nidulans* NK-62 on Low-Value Lignocellulosic substrates." **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. 19 : 691-694.
- Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K. and Suksamrarn, A. 2004. "Bioactive Compounds from *Chaetomium*, *C. globosum* and *Trichoderma harzianum*." 166-169. In **Proceeding of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development**, Bangkok, Thailand.

- Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Nasomjai, P., Louangsysouphanh, S., Soyotong, K., Isobe, M., Kongsaree, P., Prabpai, S. and Suksamrarn, A. 2006. "Antifungal Azaphilones from the Fungus *Chaetomium cupreum* CC3003." **Journal of Natural Products**. 69 : 891-895.
- Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Phonkerd, N., Soyotong, K., Kongsaree, P. and Suksamrarn, A. 2002. "Antimycobacterial Anthraquinone-Chromanone Compound and Diketopiperazine Alkaloid from the Fungus *Chaetomium globosum* KMITL-N0802." **Planta Medica**. 68 : 834-836.
- Khumkomkhet, P., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Hahnvajjanawong, C. and Soyotong, K. 2009. "Antimalarial and Cytotoxic Depsidones from the fungus *Chaetomium brasiliense*." **Journal of Natural Products**. 72(8) : 1487-1491.
- Korsten, L. and Govender, V. 2006. "Evaluation of Different Formulations of *Bacillus licheniformis* in Mango Pack House Trials." **Biological Control**. 37 : 237-242.
- Kramer, J. 1989. **The World Wildlife Fund Book of Orchids**. New York : Abbeville Press.
- Larran, S., Mónaco, C. and Alippi, H.E. 2001. "Endophytic Fungi in Leaves of *Lycopersicon esculentum* Mill." **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. 17 : 181-184.
- Liu, M., Hu, F., Chen, X., Huang, Q., Jiao, J., Zhang, B. and Li, H. 2009. "Organic Amendments with Reduced Chemical Fertilizer Promote Soil Microbial Development and Nutrient Availability in a Subtropical Paddy Field : The Influence of Quantity, Type and Application Time of Organic Amendments." **Applied Soil Ecology**. 42 : 166-175.
- Lodge, D.J., Fisher, P.J. and Sutton, B.C. 1996. "Endophytic Fungi of *Manilkara bidentata* Leaves in Puerto Rico." **Mycologia**. 88(5) : 733-738.
- Lu, H., Zou, W.X., Meng, J.C., Hu, J. and Tan, R.X. 2000. "New Bioactive Metabolites Produced by *Colletotrichum* sp., an Endophytic Fungus in *Artemista annua*." **Plant Science**. 151(1) : 67-73.
- Malmstrøm, J., Christophersen, C., Barrero, A.F., Oltra, J.E., Justicia, J. and Rosales, A. 2002. "Bioactive Metabolites from a Marine-Derived Strain of the Fungus *Emericella varicolor*." **Journal of Natural Products**. 65(3) : 364-367.
- Mejia, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Bael, S.V., Arnold, A.E., Hebbar, P., Samuels, G.J., Robbins, N. and Herre, E.A. 2008. "Endophytic Fungi as Biocontrol Agents of *Theobroma cacao* Pathogens." **Biological Control**. 44 : 4-14.

- Moosophon, P., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K. and Soyong, K. 2009. "Chemical Constituents from Crude Hexane and EtOAc Extracts of *Emericella nidulans*." http://www.scisoc.or.th/stt/32/sec_c/paper/stt32_c3_co314.pdf.
- Moosophon, P., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K. and Soyong, K. 2009. "Prenylxanthenes and a Bicyclo [3.3.1] nona-2,6-diene Derivative from the fungus *Emericella rugulosa*." **Journal of Natural Products**. 72(8) : 1442-1446.
- Naik, B.S., Shashikala, J. and Krishnamurthy, Y.L. 2009. "Study on the Diversity of Endophytic Activities *in vitro*." **Microbiological Research**. 164 : 290-296.
- Okane, I., Nakagiri, A. and Ito, T. 2001. "Identity of *Guignardia* sp. Inhibiting Ericaceous Plants." **Canadian Journal of Botany**. 79(1) : 101-109.
- Park, J.H., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Kim, H.T., Cho, K.Y. and Kim, J.C. 2005. "Antifungal Activity Against Plant Pathogenic Fungi of Chaetoviridins Isolated from *Chaetomium globosum*." **FEMS Microbiology Letters**. 252 : 309-313.
- Perello, A., Simon, M.R. and Arambarri, A.M. 2002. "Interaction Between Foliar Pathogens and the Saprophytic Microflora of the Wheat (*Triticum aestivum* L.) Phylloplane." **Journal of Phytopathology**. 150(4-5) : 232-243.
- Peres, N.A.R., Souza, N.L., Peever, T.L. and Timmer, L.W. 2004. "Benomyl Sensitivity of Isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from Citrus." **Plant Disease**. 88(2) : 125-130.
- Phongpaichit, S., Rungjindamai, N., Rukachaisirikul, V. and Sakayaroj, J. 2006. "Antimicrobial Activity in Cultures of Endophytic Fungi Isolated from *Garcinia* species." **FEMS Immunology & Medical Microbiology**. 48(3) : 367-372.
- Phonkerd, N., kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Soyong, K., Prabpai, S. and Kongsearee, P. 2008. "Bis-Spiro-Azaphilones and Azaphilones from the Fungi *Chaetomium cochliodes* VTh01 and *C. cochliodes* CTh05." **Tetrahedron**. 64 : 9636-9645.
- Photita, W., Lumyong, S., Lumyong, P. and Hyde, K.D. 2001. "Endophytic Fungi of Wild Banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand." **Mycological Research**. 105(12) : 1508-1513.
- Podstolski, A., Frenkel, D.H., Malinowski, J., Blount, J.W., Kourteva, G. and Dixon, R.A. 2002. "Unusual 4-hydroxybenzaldehyde Synthase Activity from Tissue Cultures of the Vanilla Orchid *Vanilla planifolia*." **Phytochemistry**. 61 : 611-620.

- Pongcharoen, W., Rudachaisirikul, V., Phongpaichit, S., Kühn, T., Pelzing, M., Sakayaroj, J. and Taylor, W.C. 2008. "Metabolites from the Endophytic Fungus *Xylaria* sp. PSU-D14." **Phytochemistry**. 69 : 1900-1902.
- Qin, J.C., Zhang, Y.M., Gao, J.M., Bai, M.S., Yang, S.X., Laatsch, H. and Zhang, A.L. 2009. "Bioactive Metabolites Produced by *Chaetomium globosum*, an Endophytic Fungus Isolated from *Ginkgo biloba*." **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 19 : 1572-1574.
- Ratanacherdchai, K. and Soyong, K. 2004. "A Study of Vanilla Disease in Thailand." 232-235. In **Proc. of the 1st KMITL International Conference on Intergration of Science & Technology for Sustainable Development**, Bangkok, Thailand.
- Rautaray, S.K., Ghosh, B.C. and Mittra, B.N. 2003. "Effect of Fly Ash, Organic Wastes and Chemical Fertilizers on Yield, Nutrient Uptake, Heavy Metal Content and Residual Fertility in a Rice-Mustard Cropping Sequence Under Acid Lateritic Soils." **Bioresource Technology**. 90 : 275-283.
- Rukachaisirikul, V., Sommart, U., Phongpaichit, S., Sakayaroj, J. and Kirtikara, K. 2008. "Metabolites from the Endophytic fungus *Phomopsis* sp. PSU-D15." **Phytochemistry**. 69 : 783-787.
- Santamaria, J. and Bayman, P. 2005. "Fungal Epiphytes and Endophytes of Coffee Leaves (*Coffea arabica*)." **Microbial ecology**. 50 : 1-8.
- Sasikumar, B., Rema, J. and Ravindran, P.N. 1992. "Vanilla." **India Cocoa, Arecanut and Spices Journal**. 16 : 6-10.
- Schulz, B., Rommert, A.K., Dammann, U., Aust, H.J. and Strack, D. 1999. "The Endophyte-Host Interaction : a Balanced Antagonism?." **Mycological Research**. 103 : 1275-1283.
- Seena, S. and Sridhar, K.R. 2004. "Endophytic Fungal Diversity of 2 Sand Dune Wild Legumes from the Southwest Coast of India." **Canadian Journal of Microbiology**. 50(12) : 1015-1021.
- Seidenfaden, G. and Wood, J.J. 1992. **The Orchids of Peninsular Malaysia and Singapore**. Special – Trykkeriet Viborg.
- Sibounnavong, P., Cynthia, C.D., Kanokmedhakul, S. and Soyong, K. 2008. "The New Antagonistic Fungus, *Emericella nidulans* strain EN Against Fusarium Wilt of Tomato." **Journal of Agricultural Technology**. 4(1) : 89-99.

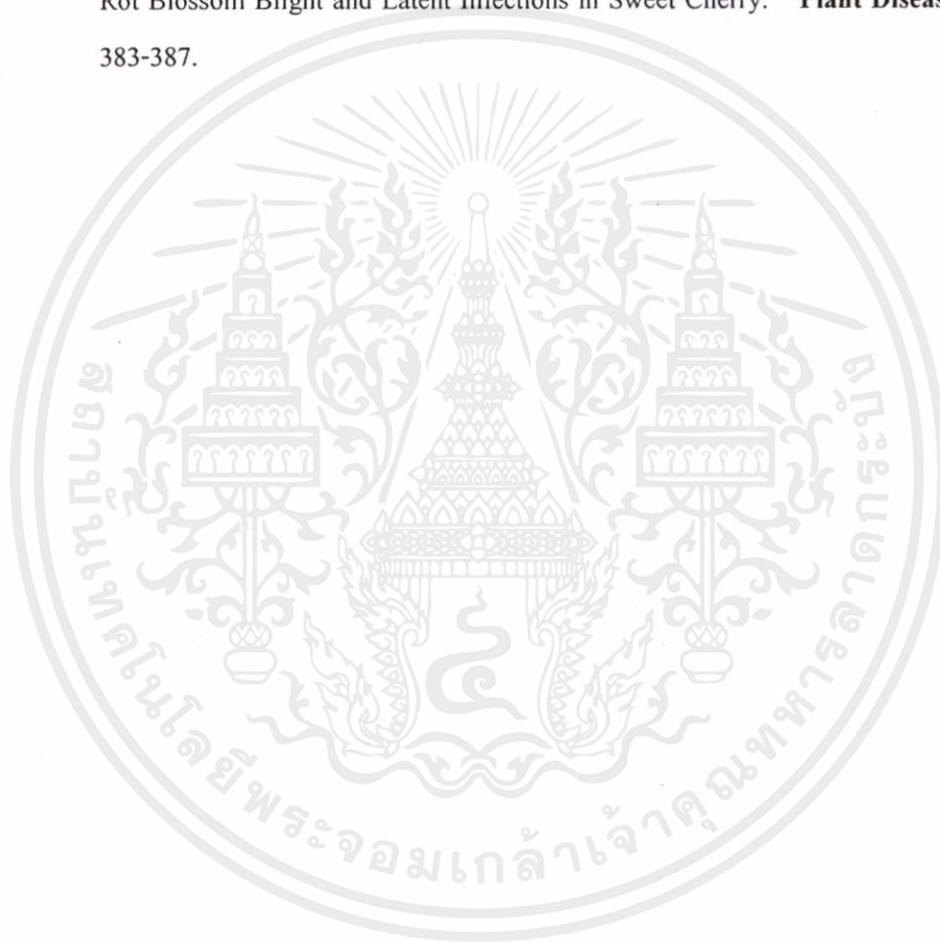
- Sibounnavong, P., Keoudone, C., Soyong, K., Divina, C.C. and Kalaw, S.P. 2010. "A New Mycofungicide *Emericella nidulans* Against Tomato Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*." **Journal of Agricultural Technology**. 6(1) : 19-30.
- Silva, G.H., Teles, H.L., Zanardi, L.M., Young, M.C.M., Eberlin, M.N., Hadad, R., Pfenning, L.H., Costa-Neto, C.M., Castro-Gamboa, I., Bolzani, V.D.S. and Araújo, Á.R. 2006. "Cadinane Sesquiterpenoids of *Phomopsis cassia*, an Endophytic Fungus Associated with *Cassia spectabilis* (Leguminosae)." **Phytochemistry**. 67 : 1964-1969.
- Soyong, K. 1991. "Antagonism of *Chaetomium globosum* to Leaf Spot Disease of Corn." 269-275. In **The 29th Kasetsart University Annual Conference**. Bangkok, Kasetsart University.
- Soyong, K. and Quimio, T.H. 1989. "Antagonism of *Chaetomium globosum* to the Rice Blast Pathogen, *Pyricularia oryzae*." **Kasetsart Journal (Natural Science)**. 23 : 198-203.
- Soyong, K., Kanokmedhakul, S., Kukongviriyapa, V. and Isoba, M. 2001. "Application of *Chaetomium* (Ketomium® as a New Broad Spectrum Biological Fungicide for Plant Disease Control: A Review Article." **Fungal Diversity**. 7 : 1-15.
- Soyong, K. and Rattanacherdchai, K. 2008. "Vanilla Disease in Thailand." **Research and Development Journal**. 1(1) : 22-25.
- Soyong, K., Pongnak, W. and Kasiolarn, H. 2005. "Biological Control of *Thielaviopsis* Bud Rot of *Hyophorbe lagenicaulis* in the Field." **Journal of Agricultural Technology**. 1(2) : 235-245.
- Soyong, K., Srinon, W., Rattanacherdchai, K., Kanokmedhakul, S. and Kanokmedhakul, K. 2005. "Application of Antagonistic Fungi to Control Anthracnose Disease of Grape." **Journal of Agricultural Technology**. 1(1) : 33-41.
- Strobel, G.A. 2003. "Endophytes as Sources of Bioactive Products." **Microbes and Infection**. 5 : 535-544.
- Suryanarayanan, T.S. and Vijaykrishna, D. 2001. "Fungal Endophytes of Aerial Roots of *Ficus benghalensis*." **Fungal Diversity**. 8 : 155-161.
- Suryanarayanan, T.S., Senthilarasu, G. and Muruganandam, V. 2000. "Endophytic Fungi from *Cuscuta reflexa* and its Host Plants." **Fungal Diversity**. 4 : 117-123.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Tejesvi, M.V., Mahesh, B., Nalini, M.S., Prakash, H.S., Kini, K.R., Subbiah, V. and Shetty, H.S. 2005. "Endophytic Fungal Assemblages from Inner Bark and Twig of *Terminalia arjuna* W. & A. (Combretaceae)." **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. 21 : 1535-1540.
- Tombe, M., Komot, Y. and Tezuka, N. 1991. "Identification and Cultural Type of *Fusarium* Isolates from Vanilla in Indonesia." **Industrial Crops Research Journal**. 6(1) : 1-5.
- Toofanee, S.B. and Dulymamode, R. 2002. "Fungal Endophytes Associated with *Cordemoya integrifolia*." **Fungal Diversity**. 11 : 169-175.
- Usuwan, P., Soyong, K., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Kukongviriyapan, V. and Isobe, M. 1991. "Integrated Biological Control of *Phytophthora* Root Rot Sweet Orange Using Mycofungicide." 329-331. In **Thailand 5th International Conference on Plant Protection in the Tropics**. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Valois, D., Fayad, K., Barasubiye, T., Garon, M., Déry, C., Brzezinski, R. and Beaulieu, C. 1996. "Glucanolytic Actinomycetes Antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the Causal Agent of Raspberry Root Rot." **Applied and Environmental Microbiology**. 62(5) : 1630-1635.
- Verma, V.C. and Kharwar, R.N. 2006. "Efficacy of Neem Leaf Extract Against it's own Fungal Endophyte *Curvularia lunata*." **Journal of Agricultural Technology**. 2(2) : 329-335.
- Vega, F.E. 2008. "Insect Pathology and Fungal Endophytes." **Journal of Invertebrate Pathology**. 98 : 277-279.
- Vega, F.E., Posada, F., Aime, M.C., Ripoll, M.P., Infante, F. and Rehner, S.A. 2008. "Entomopathogenic Fungal Endophytes." **Biological Control**. 46 : 72-82.
- Waliszewski, K.N., Pardio, V.T. and Ovando, S.L. 2006. "A Simple and Rapid HPLC Technique for Vanillin Determination in Alcohol Extract." **Food Chemistry**. 101 : 1059-1062.
- Wang, S., Li, X.M., Teuscher, F., Li, D.L., Diesel, A., Ebel, R., Proksch, P. and Wang, B.G. 2006. "Chaetopyranin, a Benzaldehyde Derivative, and other Related Metabolites from *Chaetomium globosum*, an Endophytic Fungus Derived from the Marine Red Alga *Polysiphonia urceolata*." **Journal of Natural Products**. 69(11) : 1622-1625.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Wang, B., Priest, M.J., Davidson, A., Brubaker, C.L., Woods, M.J. and Burdon, J.J. 2007. "Fungal Endophytes of Native *Gossypium* species in Australia." **Mycological Research**. 111 : 347-354.
- Wang, H.K., Hyde, K.D., Soyong, K. and Lin, F.C. 2008. "Fungal Diversity on Fallen Leaves of *Ficus* in Northern Thailand." **Journal of Zhejiang University Science B**. 9(10) : 835-841.
- Wittig, H.P.P., Johnson, K.B. and Pscheidt, J.W. 1997. "Effect of Epiphytic Fungi on Brown Rot Blossom Blight and Latent Infections in Sweet Cherry." **Plant Disease**. 81(4) : 383-387.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

1. จุฬาลักษณ์ ตลับนาค และ เกษม สร้อยทอง. 2552. “การควบคุมโรคแอนแทรกคโนสของวานิลลา (*Vanilla plicifera* Holttum) โดยใช้เชื้อรา *Emericella nidulans*.” วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 18(2) : 25-34.
2. Talubnak, C. and Soyotong, K. 2007. “Preliminary study of endophytic fungi from vanilla.” pp. 613-614. In **International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology**. Bangkok, Thailand.
3. Talubnak, C. and Soyotong, K. 2010. “Biological control of vanilla anthracnose using *Emericella nidulans*.” **Journal of Agricultural Technology**. 6(1) : 47-55.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วารสารวิทยาศาสตร์ภาคตะวันออกเฉียงใต้ ปีที่ 18 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม-กันยายน 2552

การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของวานิลลา (*Vanilla plicifera* Holtum) โดยใช้
เชื้อรา *Emericella nidulans*

Controlling Anthracnose of *Vanilla plicifera* Holtum using
Emericella nidulans

จุฬาลักษณ์ ตลับนาค และ เกษม สร้อยทอง

Chulalak Talubnak and Kasem Soyong

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

การทดสอบศักยภาพในการต่อต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนส (*Colletotrichum gloeosporioides*) ของ *Vanilla plicifera* Holtum ด้วยเชื้อรา *Emericella nidulans* โดยการแยกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคจากใบวานิลลาด้วยวิธี tissue transplanting technique ได้จำนวน 6 ไอโซเลต (ไอโซเลต VII - VI6) และเมื่อนำไปทดสอบการเกิดโรคด้วยวิธี detached leaves พบว่า ไอโซเลต VII ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด ในการทดสอบศักยภาพของการต่อต้านเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลต VII ด้วยเชื้อรา *E. nidulans* ที่แยกได้จากเศษซากใบของวานิลลาด้วยวิธีการทดสอบเลี้ยงเชื้อร่วมในอาหาร (Bi-culture) พบว่าเชื้อรา *E. nidulans* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุได้ 46.11% และ 89.45% ตามลำดับ และวิธีการทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ hexane, ethyl acetate และ methanol พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จาก hexane ที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลต VII ได้ โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 5.523 µg/ml และ 0.016 µg/ml ตามลำดับ

คำสำคัญ : *Vanilla plicifera*, anthracnose, *Emericella nidulans*, *Colletotrichum gloeosporioides*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

The effect of *Emicella nidulans* against anthracnose disease of *Vanilla ptilifera* Holtum caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) was investigated. Six isolates of *C. gloeosporioides* (VII - VI6) were obtained by tissue transplanting technique and all of them were proved for their pathogenicity. The results showed that the isolate VII gave the highest virulence for disease incidence. *Emicella nidulans* was isolated from fallen leaves of *V. ptilifera* and tested against mycelial growth and spore production of *C. gloeosporioides* VII by bi-culture and bioactivity assay tests. Bi-culture test showed that *E. nidulans* could inhibit mycelial growth and spore production by 46.11% and 89.45%, respectively. Crude extracts were extracted from *E. nidulans* with hexane, ethyl acetate and methanol. Crude extract which was extracted by hexane gave the best mycelial growth inhibition and spore production at the concentration of 1,000 µg/ml and the effective doses (ED₅₀) were 5,523 µg/ml and 0.016 µg/ml, respectively.

Keywords: *Vanilla ptilifera*, anthracnose, *Emicella nidulans*, *Colletotrichum gloeosporioides*

คำนำ

วานิลลา (*Vanilla ptilifera* Holtum) หรือ งค หรือ สามร้อยต่อใหญ่ [1] เป็นกล้วยไม้ป่าที่พบในแถบภาคใต้ของประเทศไทย ประเทศมาเลเซีย จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae ลำต้นเป็นเถาเลื้อย เป็นกล้วยไม้ชนิดเดียวที่สามารถนำฝักมาใช้ประโยชน์ได้ โดยนำมาหมักและบ่มให้เกิดกลิ่นหอมและรสชาติ แล้วนำฝักไปสกัดสาร ที่เรียกว่า วานิลลิน (Vanillin: 4-hydroxy-3-methoxy-benzaldehyde) ใช้สำหรับปรุงแต่งกลิ่นและรสอาหาร เช่น ไอศกรีม ช็อกโกแลต เครื่องดื่ม ขนม นougat เฝอแห้งใช้ในอุตสาหกรรมยา น้ำหอม และ เครื่องสำอาง ได้อีกด้วย ปัจจุบันประเทศไทยยังมีการนำเข้าผลิตภัณฑ์วานิลลาและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการปลูกภายในประเทศมีปริมาณน้อย และยังไม่แพร่หลายเหมือนพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น จึงควรส่งเสริมการปลูกวานิลลาให้มากขึ้น [2-4]

การปลูกวานิลลามีักจะพบปัญหาจากการเข้าทำลายของโรค โดยเฉพาะ โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) [5-6] มีรายงานว่าโรคนี้ทำความเสียหายรุนแรงในแปลงปลูกวานิลลา โดยเข้าทำลายลำต้น ใบ ฝัก และ ราก บริเวณโคนต้น ทำให้ต้นเหี่ยว โรคนี้จะระบาดในช่วงฤดูฝน โดยเฉพาะในแปลงปลูกที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีสภาพร่มเงามากเกินไป [7] ในการป้องกันกำจัดโรคโดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีกำจัด เช่น Benomyl [8] ซึ่งการใช้สารเคมี ในปริมาณมากมักก่อให้เกิดการสะสมสารพิษในสิ่งแวดล้อม จนอาจจะเป็นอันตรายต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิ่งมีชีวิต [9] ดังนั้น ในการป้องกันกำจัดโรคพืชและหาวิธีการใช้สารเคมีให้น้อยที่สุด พบว่าในปัจจุบันมีนักวิจัยได้ศึกษา ทดลองนำเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา แอคติโนมัยซีต (actinomycetes) มาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชต่างๆ เช่น การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* ควบคุมโรคแอนแทรกโนส และ โรคลำต้นเน่า (stem-end rot) ในมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Botryosphaeria* spp. [10] การใช้แอคติโนมัยซีตต่อต้านเชื้อรา *Phytophthora fragariae* var. *rubi* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากเน่าของต้นราสเบอร์รี่ (raspberry root rot) [11] และการใช้เชื้อราในการควบคุมโรคพืช เช่น ใช้เชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *C. globosum* ต่อต้านเชื้อรา *Thielaviopsis paradoxa* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากเน่า (bud rot) ของปาล์มแซมเปญ (Hyopharbe lagenicaulis (L.H. Bailey) H.E. Moore) [12] โรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุน [13] และมีรายงานว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถควบคุมโรคแอนแทรกโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในพืชหลายชนิด เช่น ส้มเขียวหวาน ปาล์ม มะม่วง และ องุ่น [14-17] นอกจากนี้เชื้อรา *Emicella nidulans* strain EN ควบคุมโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* [18] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *E. nidulans* ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของวงเงาะในห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อสาเหตุโรค

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบวานิลลา (*Vanilla pflifera* Holtum) ที่เป็นโรคแอนแทรกโนสจากพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี มาทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรค (*Colletotrichum gloeosporioides*) โดยวิธี tissue transplanting technique [6] ที่ห้องปฏิบัติการดีกรีวิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2. ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

นำเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทุกไอโซเลทที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีแล้วยัดชิ้นฟันทึ่มเชื้อสาเหตุโรควางบนใบวานิลลาที่ทำแผลด้วยแอลกอฮอล์บนใบหน้าเชื้อ จำนวน 4 ใบต่อไอโซเลท ใช้อาหาร PDA อย่างเดียวเป็นตัวควบคุม (control) เพื่อใช้เปรียบเทียบการทดลอง หลังจากนั้นนำใบวานิลลาที่ปลูกเชื้อแล้ว (Inoculated leaves) บ่มในตู้ที่ควบคุมความชื้น (Moist chamber) วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ตรวจสอบการทดลองหลังจากการปลูกเชื้อ โดยสังเกตการเกิดโรคมบนแผล วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลที่ทำารปลูกเชื้อ เปรียบเทียบกับ control วิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ DMRT จากนั้นคัดเลือกไอโซเลทที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1 ทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ทดสอบคือ เชื้อรา *Emericella nidulans* ที่แยกได้จากเสมชากใบวานิลานำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส *C. gloeosporioides* ไอโซเลทที่รุนแรงที่สุด โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคนบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนี ทั้งนี้ปฏิบัติเช่นเดียวกันกับจุลินทรีย์ต่อต้าน แล้วย้ายชิ้นส่วนของจุลินทรีย์ต่อต้านและชิ้นส่วนของเชื้อราสาเหตุโรควางบนอาหาร PDA ในลักษณะตรงกันข้ามให้มีระยะห่างพอประมาณ และทำการเลี้ยงจุลินทรีย์ต่อต้านและเชื้อราสาเหตุโรคนบน PDA คนละจานทดลอง เพื่อเป็นควบคุม (control) สำหรับใช้เปรียบเทียบและนำจานทดลองทั้งหมดไปที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส) วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคที่อายุ 10, 20 และ 30 วัน และนับจำนวนสปอร์ที่อายุ 30 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (Growth inhibition, GI) โดยใช้สูตร $GI = (R1 - R2) / R1 \times 100$ เมื่อ R1 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคของ control R2 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคของอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

3.2 ทดสอบโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้าน

เลี้ยงจุลินทรีย์ต่อต้าน *E. nidulans* ในอาหาร Potato dextrose broth (PDB) เป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส) และกรองเก็บเฉพาะเส้นใยเชื้อรา ทำให้แห้งและนำไปแช่ในตัวทำละลาย Hexane เป็นเวลา 5 วัน เมื่อครบกำหนดกรองแยกกากออก นำกากที่แยกได้แช่ใน Ethyl acetate และ Methanol ตามลำดับ ส่วนของสารละลายที่ได้นำไประเหยเพื่อกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) แล้วนำสารที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค *C. gloeosporioides*

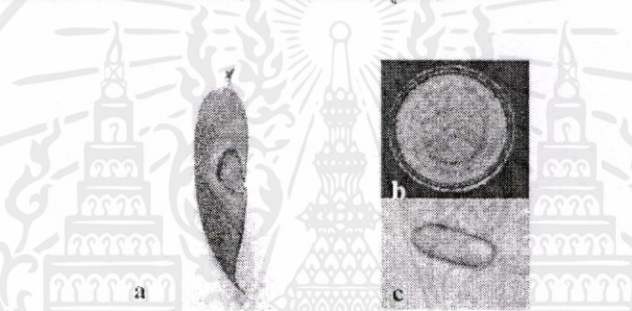
การทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบ โดยทำการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) กำหนดจำนวน 6 สิ่งทดลอง 4 ซ้ำ ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ ดังนี้ 0, 10, 50, 100, 500 และ 1,000 µg/ml ละลายด้วย 2% Dimethylsulfoxide (DMSO) ผสมในอาหาร PDA คนแล้วเลี้ยง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นนำ cork borer เจาะขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค *C. gloeosporioides* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน และนำไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับสารสกัดหยาบในแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีและนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค แล้วนำมาคำนวณหา Effective Dose (ED₅₀) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อสาเหตุโรค

จากการเก็บตัวอย่างใบवानิลลาที่เป็นโรคแอนแทรกโนส และนำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรค ได้ทั้งหมด 6 ไอโซเลท คือ VII, VI2, VI3, VI4, VI5 และ VI6 ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ลักษณะของโคโคนีเป็นเส้นใยหยาบปานกลางจนถึงละเอียดคล้ายกำมะหยี่ บางไอโซเลทฟู สีขาวจนถึงสีเทา การเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ก่อนข้างเร็ว บางไอโซเลทมีการสร้าง setae และ sclerotia บางไอโซเลทสร้าง setae หรือ sclerotia อย่างใดอย่างหนึ่งบางไอโซเลทมีการสร้าง spore mass ที่ส้ม ต่ำ conidia มีรูปร่างคล้ายแคปซูล หัวท้ายมน (cylindrical) โคน ไม่มีสีเขียว ขนาดประมาณ 3.4-4.6 x 9.8-15.1 ไมโครเมตร (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ขบวนการของโรคและลักษณะของเชื้อสาเหตุ

a) แสดงใบวานิลลาที่เป็นโรคแอนแทรกโนส

b) แสดงโคนี *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PDA อายุ 10 วัน

c) ลักษณะ conidia *Colletotrichum gloeosporioides* ที่กำลังขยาย 40x

2. ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

จากการทดสอบการเกิดโรคของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 6 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท VII มีความสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด ทำให้แผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 13 มิลลิเมตร และแผลมีขนาดใหญ่ที่สุด (ตารางที่ 1 รูปที่ 2)

3. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในห้องปฏิบัติการ

3.1 ทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนสโดยใช้ *E. nidulans* พบว่า เชื้อนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* VII ได้ 46.11% และ 89.45% ตามลำดับ (รูปที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ทดสอบโดยใช้สารสกัดหายาจากจุลินทรีย์ต่อต้าน

จากการทดลองพบว่า สารสกัดหายา *E. nidulans* ที่สกัดด้วย hexane, methanol และ ethyl acetate สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml เท่ากับ 97.32, 94.13 และ 70% ตามลำดับ โดยมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 0.016, 0.06 และ 101.75 µg/ml ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสารที่สกัดด้วย methanol ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 µg/ml ให้ผลยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml (ตารางที่ 2) ส่วนสารสกัดหายาที่สกัดด้วย methanol, ethyl acetate และ hexane สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml ซึ่งเท่ากับ 43, 34.5 และ 22.5% ตามลำดับ และมีค่า ED₅₀ คือ 3280, 1855 และ 5523 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ รูปที่ 4) แม้จะพบว่าสารสกัดหายาด้วย hexane ในระดับความเข้มข้น 500 µg/ml ให้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยให้ดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml (ตารางที่ 2)

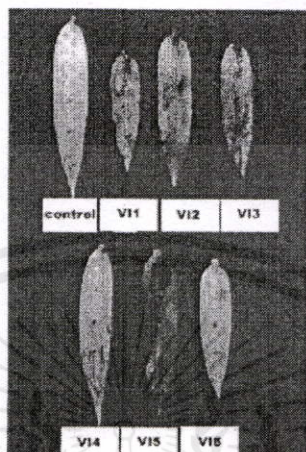
ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความต้านทานในการเกิดโรคแอนแทรกซ์ในสัตว์ทดลอง ชื่อราสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* ทั้ง 6 ไอโซแลท

ไอโซแลท	เส้นผ่านศูนย์กลางแผล (มม.)
VI1	13.00a
VI2	8.75b
VI3	9.75b
VI4	5.25c
VI5	9.25b
VI6	5.25c
Control	5.00c
CV (%)	10.77

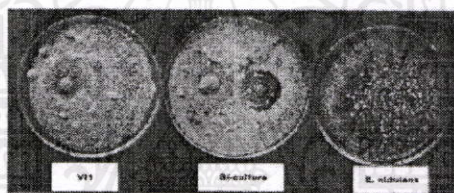
*ค่าเฉลี่ยของ 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ $P \leq 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วารสารวิทยาศาสตร์ภาคตะวันออก ปีที่ 18 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม-กันยายน 2552



รูปที่ 2 การเกิดโรคนบนใบ *Vanilla pifera* หลังจากการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ 6 โยโซลทุกเป็นเวลา 15 วัน



รูปที่ 3 การเจริญเติบโตของ *Emericella nidulans* ร่วมกับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โยโซลทุก VII ที่อายุ 30 วัน

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจาก *Emericella nidulans* ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการรวมสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โยโซลทุก VII

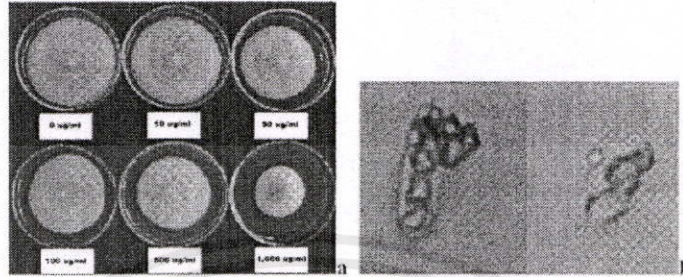
Concentration (µg/ml)	Hexane		Ethyl acetate		Methanol	
	% MGI ¹	% SP ²	% MGI	% SP	% MGI	% SP
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	3.50d ¹	87.19c	5.50d	26.28c	1.50d	85.42b
50	9.00c	92.89b	7.50cd	35.37bc	16.00c	85.07b
100	15.50b	96.01ab	13.00c	41.59bc	18.50c	90.72a
500	20.00a	96.14ab	28.00b	51.99ab	23.50b	92.23a
1,000	22.50a	97.32a	34.50a	70.00a	43.00a	94.13a
CV (%)	11.13	1.85	15.22	24.28	7.66	2.63

¹MGI = mycelial growth inhibition

²SP = spore production

¹ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P ≤ 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โยโคเลข VII บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Emericella nidulans* ที่สกัดด้วย methanol (a) และสกัดของ oolong ที่คิดปกติ ที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml (b)

จากการเก็บตัวอย่างใบวานิลลา (*Vanilla plicifera*) ที่เป็นโรคแอนแทรคโนสและนำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรค พบว่าเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Divakaran และคณะ [5] และจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราคัดค้าน โดยการทดสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม พบว่าเชื้อรา *Emericella nidulans* มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* VII และการทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sibounnavong และคณะ [18] ที่ใช้ bioactive compound จากเชื้อรา *E. nidulans* strain EN ยังมีการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคมะเขือเทศ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml และมีค่า ED₅₀ เท่ากับ 211 µg/ml

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla plicifera* ด้วยเชื้อรา *E. nidulans* โดยวิธีเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม และ วิธีใช้สารสกัดหยาบ แสดงให้เห็นว่าการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *E. nidulans* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* VII ได้ดีกว่าวิธีการเลี้ยงเชื้อบนอาหารร่วม ดังนั้นควรมีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับการนำสารสกัดหยาบที่ได้จากเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสามารถป้องกันกำจัดโรคพืชต่อไปและพัฒนาเพื่อจะได้นำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณทัศนารถ กระจำจวุฒิ และเจ้าหน้าที่ประจำพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

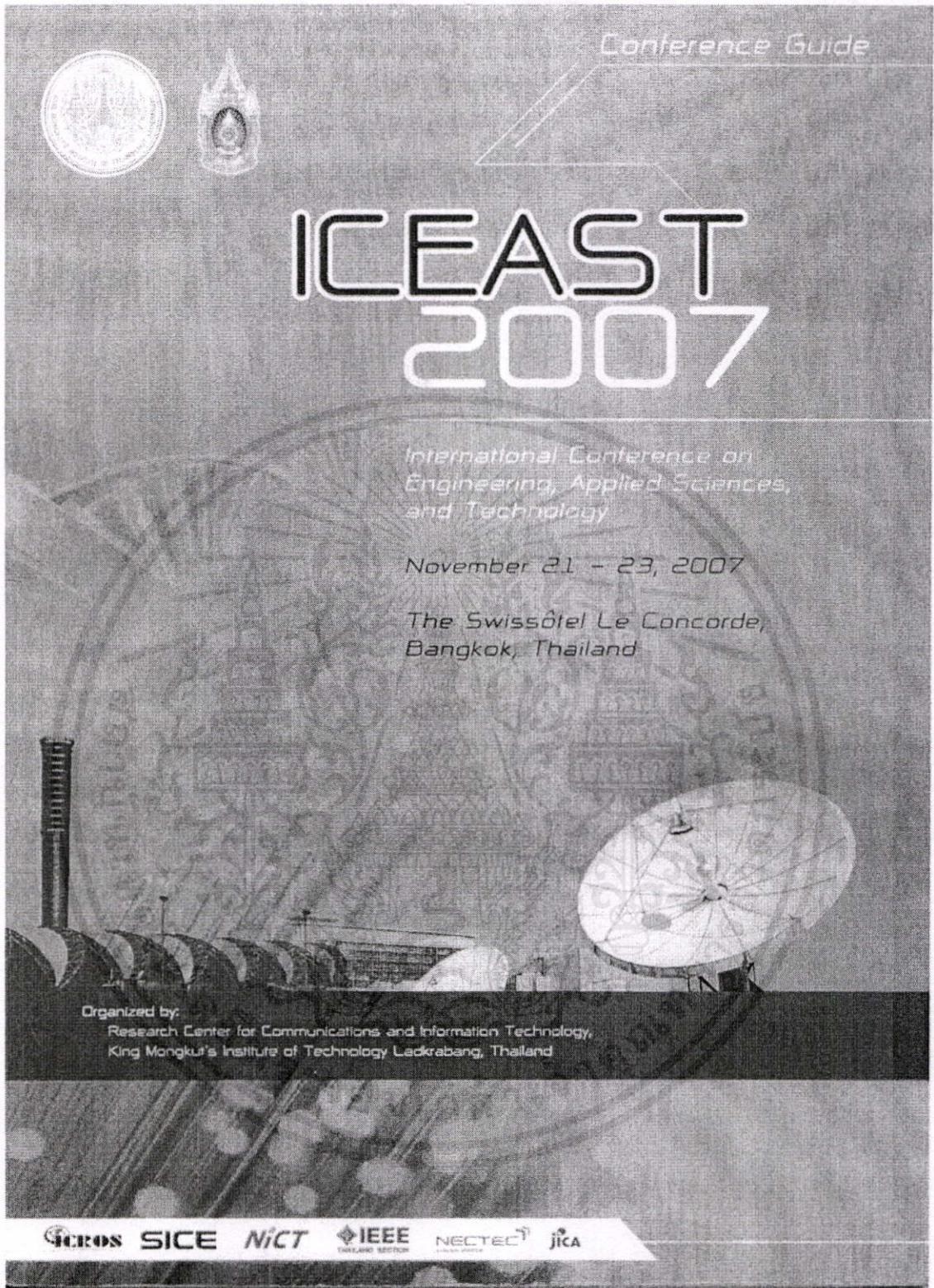
เอกสารอ้างอิง

- [1] เต็ม สมิตินันท์. "ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย". พิมพ์ครั้งที่ 2, ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ, 2544.
- [2] ธารทิพย์ เพชรบูรณ์. "ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการพัฒนาตาข้างของวานิลลา (*Vanilla planifolia* Andr.)." วารสารวิชาการเกษตร, 2549, 24(1), 97-105.
- [3] Podstolski, A., Frenkel, H.D., Malinowski, J., Blount, J.W., Kourteva, G. and Dixon, R.A. "Unusual 4-hydroxybenzaldehyde synthase activity from tissue cultures of the vanilla orchid *Vanilla planifolia*." *Phytochemistry*, 2002, 61, 611-620.
- [4] Seidenfaden, G. and Smitinand, T. "The orchids of Thailand a preliminary list." The Siam Society, Bangkok, 1958, 870.
- [5] Divakaran, M., Pillai, G.S., Babu, K.N. and Peter, K.V. "Isolation and fusion of protoplasts in *Vanilla* species." *Current Science*, 2008, 94(1), 115-120.
- [6] Ratanacherdchai, K. and Soyong, K. "A study of vanilla diseases in Thailand." Proc. of the 1st KMITL International Conference on Intergration of Science & Technology for sustainable development, Bangkok, Thailand. 25-26 August 2004, 232-235.
- [7] วราวุธ ชูธรรมธัช. "วานิลลา-Vanilla." เอกสารวิชาการ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, 2536, 27 หน้า.
- [8] Peres, N.A.R., Souza, N.L., Peever, T.L. and Timmer, L.W. "Benomyl sensitivity of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus." *Plant Disease*, 2004, 88(2), 125-130.
- [9] แสงมณี ชิงดวง. "การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยใช้พืชสมุนไพร." ข่าวสารกองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2539, 16(2), 32-34.
- [10] Korsten, L. and Govender, V. "Evaluation of different formulations of *Bacillus licheniformis* in mango pack house trials." *Biological Control*, 2006, 37, 237-242.
- [11] Valois, D., Fayad, K., Barasubiye, T., Geron, M., Dery, C., Brzezinski, R. and Beaulieu, C. "Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the causal agent of raspberry root rot." *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(5), 1630-1635.
- [12] Soyong, K., Pongnak, W. and Kasiolan, H. "Biological control of *Thielaviopsis* bud rot of *Hyophorbe lagenicaulis* in the field." *Journal of Agricultural Technology*, 2005, 1(2), 235-245.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [13] วิเชียร ศีตทอง เกษม สร้อยทอง และ สมเดช กนกเมธากุล. "การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco cv. Shogun) โดยชีววิธีแบบผสมผสาน." วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร, 2543, 17(2), 31-42.
- [14] ถิรัตน์ สมารักษ์ และเกษม สร้อยทอง. "การใช้จุลินทรีย์คีโตเมียมควบคุมโรคแอนแทรกโนสของปาล์มโดยชีววิธี." การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3 18-19 กรกฎาคม 2545. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, จังหวัดนครราชสีมา, 2545, 19-20.
- [15] วิไลรัตน์ ศรีรินทร์และเกษม สร้อยทอง. "การให้เชื้อราต่อต้านในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรกโนสขององุ่น." การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3 18-19 กรกฎาคม 2545. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, จังหวัดนครราชสีมา, 2545, 21-22.
- [16] สุมิตรา น้อยเอี่ยม "การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์โดยชีววิธีแบบผสมผสาน." วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ, 2540.
- [17] Usuan, P., Soyong, K., Kanokmedbakul, S., Kanokmedhakul, K., Kukongviriyapan, V. and Isobe, M. "Integrated biological control of *Phytophthora* root rot sweet orange using mycofungicide." Thailand 5th International Conference on Plant Protection in the Tropics 15-18 March 1999. Kuala Lumpur, Malaysia. 1999, 329-331.
- [18] Sibounnavong, P., Cynthia, C.D., Kanokmedhakul, S. and Soyong, K. "The new antagonistic fungus, *Emericella nidulans* strain EN against Fusarium Wilt of Tomato" Journal of Agricultural Technology, 2008, 4(1), 89-99.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Conference Guide

**ICEAST
2007**

*International Conference on
Engineering, Applied Sciences,
and Technology*

November 21 - 23, 2007

*The Swissôtel Le Concorde,
Bangkok, Thailand*

Organized by:
Research Center for Communications and Information Technology,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand

ICROS SICE NICT IEEE THAILAND SECTION NECTEC JICA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Preliminary study of endophytic fungi from Vanilla

Chulalak Talubnak and Kasem Soyong

Department of Plant Pest Management, Faculty of Agricultural Technology, King Monkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

Abstract—Endophytic fungi were isolated from inner tissues of healthy leaves and stems of vanilla 4 species; *Vanilla planifolia*, *V. piliifera*, *V. siamensis* and *V. albida* *Cladosporium* sp. and *Penicillium* sp. were the dominant endophytes isolated from vanilla. All of 9 isolates were encountered and identified into 9 species. The isolates from inner tissue of leaves are *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. and other fungi. The isolates from inner tissue of stem is *Cladosporium* sp.

Keywords—Endophytic fungi, *Vanilla planifolia*, *Vanilla piliifera*, *Vanilla siamensis*, *Vanilla albida*

I. INTRODUCTION

Vanilloideae, is one of the subfamilies of orchids belonging to the large family Orchidaceae. The subfamily Vanilloideae consists of 15 genera and about 180 species, belonging to the tribes Pogoniinae and Vanillinae. Vanilla is one of the rare examples of orchids used for food. Vanilla seeds and their surrounding pulp within the seed pod are used in the food industry to make the extremely popular flavoring "vanilla extract". It is now an important crop in much of the tropics.

The term endophyte was introduced by De Bary [4] and initially applied to any organism found within a plant. The word's meaning has since evolved to include any microorganism that inhabits for a period of its life cycle, the interior of plant, especially leaves, branches and stems, without causing apparent damage to its host.

Research on fungal endophytes of tree over the past two decades has shown that virtually every leaf and stem tree is infected with fungal endophytes [6]. Recent investigations of endophytic fungi in perennial plant have followed a similar approach where healthy plant tissue are systematically sampled for internal fungi. This approach differs from conventional research in plant pathology where disease tissue is selectively sampled for single pathogenic taxa [3]. However, very few hosts or regions have been investigated for endophytes in the tropics. The objective of this study was to investigate the endophytic fungi from different varieties of Vanilla to know their biological diversity.

II. MATERIAL AND METHODS

1) *Isolation of endophytes*: Healthy leaves and stems of *Vanilla planifolia*, *V. piliifera*, *V. siamensis* and *V. albida* were collected from Pathumthani province. Each sample was cut and surface sterilized by the method of Higgins et al. [5]. The samples were washed in running tap water, cut into small fragment 3x3 mm., immersed in 70% ethanol for 2 min. Clorox 10% for 1 min and then with sterilized distilled water three times. The sterilized samples were plated on potato dextrose agar medium (PDA). All the plates were incubated at room temperature until fungal growth, observed and isolated into pure culture.

III. RESULT AND DISCUSSION

The 9 isolates of endophytic fungi growing inside leaves and stem of *Vanilla planifolia*, *V. piliifera*, *V. siamensis* and *V. albida* were recorded. The results are summarized in Table 1.

TABLE 1
LIST OF ENDOPHYTIC FUNGI OF VANILLA

Host	Strain	Fungi	source
<i>Vanilla planifolia</i>	VNPL2	<i>Penicillium</i> sp.	Leaf
	VNPL3	<i>Penicillium</i> sp.	Leaf
	VNPL4	<i>Chaetomium</i> sp.	Leaf
	VNPS2	<i>Cladosporium</i> sp.	Stem
<i>Vanilla piliifera</i>	VNSL2	<i>Cladosporium</i> sp.	Leaf
	VNSL3	<i>Cladosporium</i> sp.	Leaf
<i>Vanilla siamensis</i>	VNIL1	<i>Penicillium</i> sp.	Leaf
	VNIL2	<i>Penicillium</i> sp.	Leaf
<i>Vanilla albida</i>	VNAL2	<i>Cladosporium</i> sp.	Leaf

The results are similar to Toofanee and Dulymamode [6] who reported that *Pestalotiopsis* sp. and *Penicillium* sp. were endophytic fungi isolated from *Corcemoya integrifolia*. Bertoni and Cabral [2] also found but it was epiphytic fungi including *Alternaria alternata* and *Cladosporium cladosporioides*. And Brown et al. [3] found *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis palmarum* and *Nigrospora oryzae* as the dominant endophyte isolated from Banana in Hong Kong.

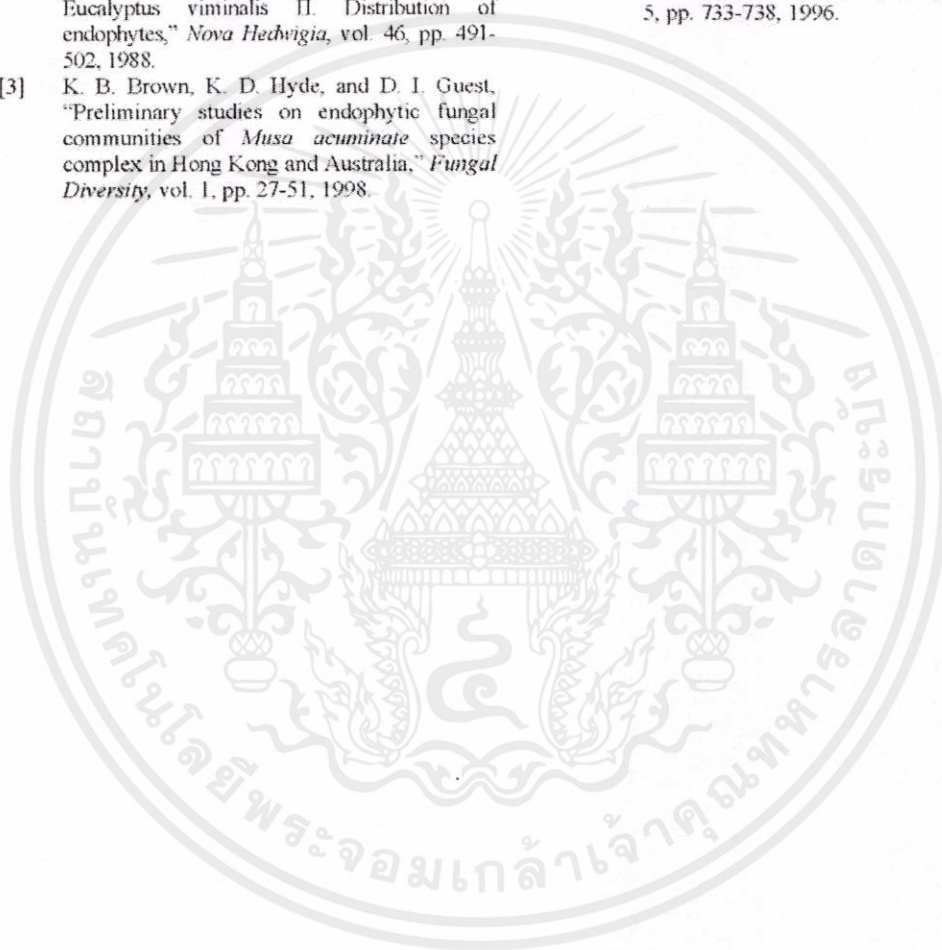
เอกสารนี้เป็น 978-974-8308-56-2 ©2007 KMITL. การใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น. ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น. อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Endophyte species abundance also varied according to the site within each location, this variation is probably a reflection of the range of environmental conditions sampled in Hong Kong and north Queensland. Sites differed primarily by rainfall, altitude and forest types; these are all factors that may influence fungal species abundance as they affect humidity, temperature and potential inoculum sources [3].

REFERENCES

- [1] A. E. Arnold, and F. Lutzoni. "Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots?," *Ecology*, vol. 88, no. 3, pp. 541-549, 2007.
- [2] M. D. Bertoni, and D. Cabral. "Phyllosphere of *Eucalyptus viminalis* II. Distribution of endophytes," *Nova Hedvigia*, vol. 46, pp. 491-502, 1988.
- [3] K. B. Brown, K. D. Hyde, and D. I. Guest. "Preliminary studies on endophytic fungal communities of *Musa acuminata* species complex in Hong Kong and Australia," *Fungal Diversity*, vol. 1, pp. 27-51, 1998.
- [4] A. De Bary. "*Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten, und Myxomyceten*," *Hofmeister's Handbook of physiological Botany*, vol. 2, Leipzig.
- [5] K. L. Higgins, A. E. Arnold, J. Miadlikowska, S. D. Sarvate, and F. Lutzoni. "Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages," *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006.
- [6] S. B. Toofanee, and R. Dulymamode. "Fungal endophytes associated with *Cordemoya integrifolia*," *Fungal Diversity*, vol. 11, pp. 169-175, 2002.
- [7] D. J. Lodge, P. J. Fisher, and B. C. Sutton. "Endophytic fungi of *Manikara bidentata* leaves in Puerto Rico," *Mycologia*, vol. 88, no. 5, pp. 733-738, 1996.



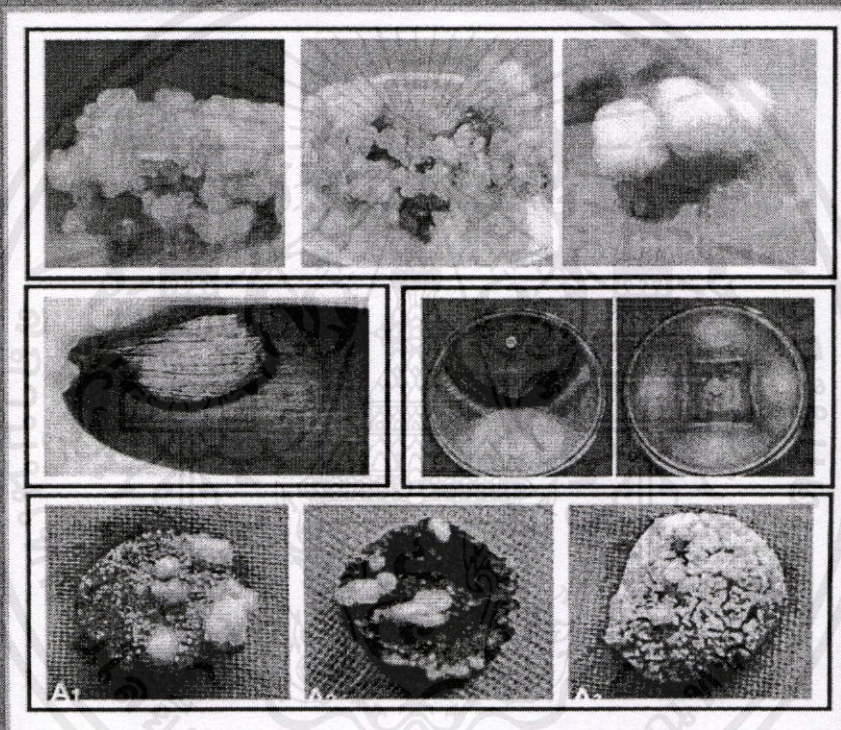
ISSN 1686-9141



Agricultural Technology

an international journal

Volume 6, Number 1, January 2010



<http://www.ijat-rmutto.com>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Biological control of vanilla anthracnose using *Emericella nidulans*

Talubnak, C.^{*} and Soyong, K.

Department of Plant Pest Management Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, 10520 Thailand.

Talubnak, C. and Soyong, K. (2010). Biological control of vanilla anthracnose using *Emericella nidulans*. Journal of Agricultural Technology 6(1): 47-55.

Emericella nidulans was proved to be antagonistic to *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) causing anthracnose of *Vanilla planifolia*. Eight isolates of *C. gloeosporioides* were proved for pathogenicity. With this, isolate VP8 gave the highest virulence for disease incidence. *E. nidulans* was isolated from fallen leaves of Vanilla and tested against mycelial growth and sporulation of *C. gloeosporioides* VP8 by bi-culture and crude extract methods. Bi-culture test showed that *E. nidulans* could inhibit mycelial growth and sporulation at 49.44% and 75.31%, respectively. Crude extracts were extracted from *E. nidulans* with hexane, ethyl acetate and methanol. Methanol crude extract inhibited the mycelial growth and sporulation at the concentration of 1,000 µg/ml and the effective dose (ED₅₀) were 2,910 µg/ml and 0.0001 µg/ml, respectively.

Key words: anthracnose, *Vanilla planifolia*, *Emericella nidulans*, *Colletotrichum gloeosporioides*

Introduction

Vanilla is a crop of great commercial importance as the source of natural vanillin, a major component of flavor industry. The genus *Vanilla*, is composed of about 110 species, distributed in tropical and subtropical regions and commercial vanilla, an important and popular flavoring material and spice. Natural vanilla flavor is derived from beans of the vanilla orchid, *Vanilla planifolia*. There are many compounds present in the extracts of vanilla, the compound is vanillin (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) is the major component of natural vanilla, which is one of the most widely used and important flavouring materials worldwide. (Podstolski *et al.*, 2002; Walton *et al.*, 2003; Besse *et al.*, 2004; Divakaran *et al.*, 2006; Waliszewski *et al.*, 2006). It is also used in the fragrance industry, in perfumes, livestock fodder, and

*Corresponding authors: Chulalak Talubnak; e-mail: chula_om@hotmail.com, kskasem@kmitl.ac.th

cleaning products. However, Vanillin has been used as flavor resources in confectionery, food, sensual desserts such as ice cream, sugar cookies, puff pastries, and butter creams and in pharmaceutical preparations (Bythrow, 2005; Waliszewski *et al.*, 2006; Jadhav *et al.*, 2009). Vanilla grows as a vine, climbing up an existing tree, pole, or other support (Ratanacherdchai and Soyong, 2004; Waliszewski *et al.*, 2006). It usually grows under hot humid climate from sea level to an elevation of 1500 m. Vanilla cultivation is severely hampered by the incidence of various diseases. It is susceptible to many fungal diseases such as foot rot and wilting which caused by *Phytophthora meadii*, *Fusarium oxysporum*, *Calospora vanillae*, *Sclerotium* rot, leaf rot, blights and brown spots or anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Divakaran *et al.*, 2008). These diseases can be controlled by fungicides and biological control agents. The biological control is an additional method that can help in reducing the disease to economically levels, with a concomitant decrease in the use of chemicals. Presently, the researcher have been considerable efforts to find biological control agents for this disease and several potential candidates have been reported including *Actinomyces* spp. (Crawford *et al.*, 1993; Valois *et al.*, 1996; Gesheva, 2002; Bressan, 2003; El-Tarabily and Sivasithamparam, 2006; Prabavathy *et al.*, 2006), *Trichoderma harzianum* (Bae and Knudsen, 2005; Srinon *et al.*, 2006), *Penicillium striatisporum* (Ma *et al.*, 2008), *Verticillium lecanii* (Verhaar *et al.*, 1999), some endophytic fungus (Lu *et al.*, 2000; Cao *et al.*, 2005; Inácio *et al.*, 2006; Istifadah and Mcgee, 2006; Phongpaichit *et al.*, 2006; Tan *et al.*, 2006; Mejía *et al.*, 2008; Pongcharoen *et al.*, 2008; Rukachaisirikul *et al.*, 2008; Qin *et al.*, 2009), *Chaetomium globosum* (Soyong and Quimio, 1989; Soyong, 1991; Dhingra *et al.*, 2003; Aggarwal *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2005), *Chaetomium cochliodes* (Phonkerd *et al.*, 2008), *Emericella varicolor* (Malmstrøm *et al.*, 2002) and *Emericella nidulans* (Sibounnavong *et al.*, 2008). This information would valuable to further study on biological control using antagonistic fungus. The aim of this research was to test antagonistic fungus, *Emericella nidulans* to inhibit *C. gloeosporioides* causing anthracnose disease of *Vanilla* species.

Materials and methods

Collection and isolation

Isolates of *C. gloeosporioides* were obtained from infected leaves of *V. planifolia*. Isolation of causing agent was done by using tissue transplanting technique into pure cultures.

Pathogenicity test

The anthracnose pathogen was isolated from diseased plant parts. Pure cultures were multiplied on PDA for inoculation. All isolates were tested for pathogenicity test on leaves of vanilla followed Koch's postulate. Inoculated leaves were kept in humid conditions at room temperature (28-32 °C). Data collected as lesion diameter (cm.) on leaves, and analyses of variance using completely randomized design (CRD) with four replications.

Bi-culture antagonistic test

In this experiment, bi-culture antagonistic test were conducted to evaluate the antagonistic fungus, *E. nidulans* against *C. gloeosporioides*. Pathogen isolates used in bi-culture antagonistic test were obtained from pathogenicity test which was the most aggressive isolate. Hyphyl plugs of *C. gloeosporioides* and *E. nidulans* were placed to the middle of a half of petri dishes (9 cm diameter) and incubated at room temperature. Data were collected measuring colony diameter for 10, 20, and 30 days of *C. gloeosporioides*, sporulation and computed as percent growth inhibition. Percentage of growth inhibition (PGI) of pathogen was evaluated in the formula $(cc-cd)/cc \times 100$; cc = colony diameter of plant pathogenic fungi in control petri dish and cd = colony diameter of plant pathogenic fungi on bi-culture in petri dish. Data were computed analyses of variance using completely randomized design (CRD) with four replications.

Test for antifungal metabolites

The microbial antagonist, *E. nidulans* were cultured in Potato dextrose broth (PDB) for 30 days, then filtered and dried mycelium mats were collected for extraction method using rotary vacuum evaporator. The crude extracts were tested in petri dishes which mixed to PDA at concentrations 0, 10, 50, 100, 500 and 1,000 µg/ml. Cultures of plant pathogenic fungi, *C. gloeosporioides* was grown for 7 days on PDA. Each pathogen was separately transferred the agar plug (0.3 cm diameter) to the center of petri dish containing crude extracts of microbial antagonist and incubated at room temperature. After 5 days of incubation, colony diameter and sporulation were recorded and computed growth inhibition (GI), Effective dose (ED₅₀) and analyses of variance using completely randomized design (CRD) with four replications.

Results and discussion

Collection and isolation

Eight isolates of the anthracnose pathogen of *V. planifolia* were isolated and identified as *Colletotrichum gloeosporioides*. With this, Soyong and Rattanacherdchai (2008) also reported that this pathogen causing anthracnose of Vanilla (Fig. 1).

Pathogenicity test

All isolates of *C. gloeosporioides* were proved to be pathogenicity to the host species. The inoculated leaves showed the anthracnose symptoms within two weeks after inoculation. Symptoms were found as small brown spots initially appeared on leaves, and the spots gradually enlarged and coalesced (Nakamura *et al.*, 2008). The result showed that isolates of *C. gloeosporioides* VP8 gave the most aggressive causing anthracnose symptom (Fig. 2).

Bi-culture antagonistic test

Bi-culture showed that *E. nidulans* could inhibit *C. gloeosporioides* VP8 in term of mycelial growth (49.44%) and sporulation (75.31%). There are several reports on the potential use of microbial antagonists for biological control of anthracnose disease caused by *Colletotrichum* spp. such as *Chaetomium*, *Trichoderma* and *Penicillium* (Udomratsak and Soyong, 2004; Soyong *et al.*, 2005), *Nigrospora* sp. strain L-03 (Thongsri and Soyong, 2004). But this result was also expressed the potential of *E. nidulans* to control vanilla anthracnose caused by *C. gloeosporioides*. With this, Sibounnavong *et al.* (2008) also reported that *E. nidulans* could be reduced tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.



Fig. 1. Vanilla anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* a) Symptom, b) Culture on PDA at 10 days, c) Conidium (40x).

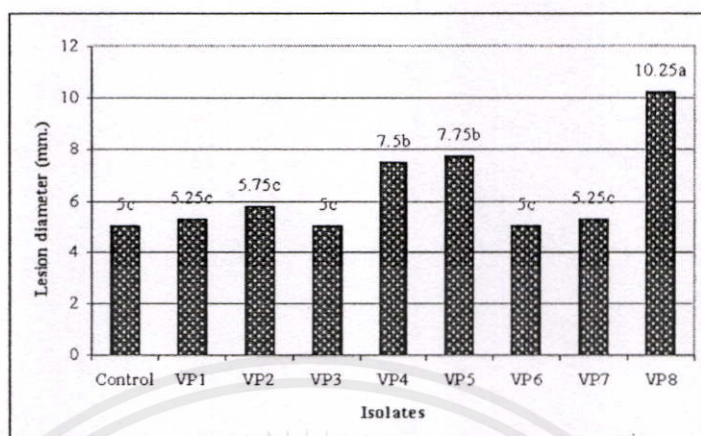


Fig. 2. Lesion diameter of vanilla anthracnose causing by *Colletotrichum gloeosporioides* on *Vanilla planifolia*.

Test for antifungal metabolites

The inhibitory effect of antifungal metabolites from *E. nidulans* on mycelial growth of *C. gloeosporioides* VP8 in the medium amended with methanol crude extract showed that the concentration of 1,000 $\mu\text{g/ml}$ strongly inhibited the mycelial growth and sporulation as 47.50 and 95.85%. The ED_{50} values were 2910 and 0.0001 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The antifungal metabolite extracted from ethyl acetate and hexane could inhibit the mycelial growth of 35.5 and 31% which the ED_{50} values were 4,922 and 5,249 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The hexane and ethyl acetate extracts inhibited the sporulation of *C. gloeosporioides* VP8 as 97.34 and 68.67% which the ED_{50} were 0.002 and 434 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Abnormal conidium of a pathogen was broken and then the protoplast was released from fungal cell when compared normal conidium. (Table 1 and Figs. 3 and 4). Similar results reported by Sibounnavong *et al.* (2008) that bioactive compound from *E. nidulans* strain EN could inhibit sporulation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing tomato wilt at the concentration of 1,000 $\mu\text{g/ml}$ with ED_{50} 211 $\mu\text{g/ml}$. With this, Moosophon *et al.* (2009) reported that *E. nidulans* strain EN could produce antibiotic substances e.g. emericellin, sterigmatocystin, demethylsterigmatocystin that inhibited human diseases such as gastric cancer, breast cancer, lung cancer and oral human epidermal carcinoma. It is interested that those antibiotic substances produced by *E. nidulans* may possible act as antibiosis as control mechanism. It is proved that *E. nidulans* become the promising antagonistic fungus as a biological agent against plant pathogenic fungi.

Table 1. Effect of crude extracts of *Emericella nidulans* for inhibition of mycelial growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides* VP8.

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Hexane		Ethyl acetate		Methanol	
	% MGI ^{1/}	% SL ^{2/}	% MGI	% SL	% MGI	% SL
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	3.00c ^{3/}	87.64b	27.00c	76.33a	19.50c	57.61b
50	14.00b	93.52ab	33.00b	79.95a	20.50c	70.45ab
100	18.00b	90.25ab	33.50b	85.61a	29.00b	79.47a
500	27.00a	95.37ab	38.50a	88.96a	29.50b	80.85a
1,000	31.00a	97.97a	40.50a	92.93a	43.00a	88.47a
CV. (%)	14.95	4.46	3.74	8.82	7.35	10.63
ED ₅₀	5249	0.002	4922	434	2910	0.0001

^{1/}MGI = mycelial growth inhibition

^{2/}SL = sporulation

^{3/}Average of four replications. Means followed by the same letter in a column were not significantly different by DMRT at P = 0.01.

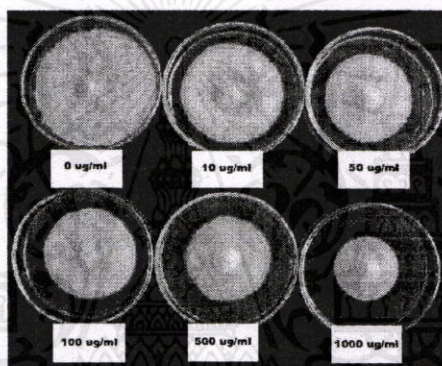


Fig. 3. Testing for methanol crude extract from *Emericella nidulans* to inhibit *Colletotrichum gloeosporioides* causing vanilla anthracnose.

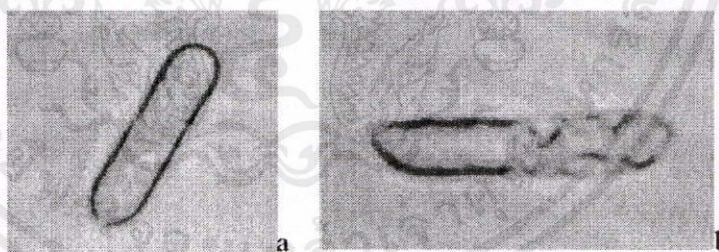


Fig. 4. Showing control mechanism of *Emericella nidulans* against *Colletotrichum gloeosporioides*. Normal conidium (a), abnormal conidium (b).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

References

- Aggarwal, R., Tewari, A.K., Srivastava, K.D., and Singh, D.V. (2004). Role of antibiosis in the biological control of spot blotch (*Cochliobolus sativus*) of wheat by *Chaetomium globosum*. *Mycopathologia* 157: 369-377.
- Bae, Y.S. and Knudsen, G.R. (2005). Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. *Biological Control* 32: 236-242.
- Besse, P., Silva, D.D., Bory, S., Grisoni, M., Bellec, F.L., and Duval, M.F. (2004). RAPD genetic diversity in cultivated vanilla: *Vanilla planifolia*, and relationships with *V. tahitensis* and *V. pompona*. *Plant Science* 167: 379-385.
- Bressan, W. (2003). Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes. *Biocontrol* 48: 233-240.
- Bythrow, J.D. (2005). Vanilla as a medicinal plant. *Seminars in integrative medicine* 3: 129-131.
- Cao, L., Qiu, Z., You, J., Tan, H., and Zhou, S. (2005). Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of Fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. *FEMS Microbiology Letters* 247: 147-152.
- Crawford, D.L., Lynch, J.M., Whipps, J.M., and Ousley, M.A. (1993). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Applied and Environmental Microbiology* 59(11): 3899-3905.
- Dhingra, O.D., Mizubuti, E.S.G., and Santana, F.M. (2003). *Chaetomium globosum* for reducing primary inoculum of *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis* in soil-surface soybean stubble in field conditions. *Biological Control* 26: 302-310.
- Divakaran, M., Babu, K.N., and Peter, K.V. (2006). Conservation of *Vanilla* species, *in vitro*. *Scientia horticultrae* 110: 175-180.
- Divakaran, M., Pillai, G.S., Babu, K.N., and Peter, K.V. (2008). Isolation and fusion of protoplasts in *Vanilla* species. *Current Science* 94(1): 115-120.
- El-Tarabily, K.A. and Sivasithamparam, K. (2006). Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 1,505-1,520.
- Gesheva, V. (2002). Rhizosphere microflora of some citrus as a source of antagonistic actinomycetes. *Eur J Soil Biol* 38: 85-88.
- Inácio, M.L., Silva, G.H., Teles, H.L., Trevisan, H.C., Cavalheiro, A.J., Bolzani, V.da.S., Young, M.C.M., Pfenning, L.H., and Araújo, Á.R. (2006). Antifungal metabolites from *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus in *Cryptocarya mandioccana* Nees (Lauraceae). *Biochem Syst Ecol* 34: 822-824.
- Istifadah, N. and Mcgee, P.A. (2006). Endophytic *Chaetomium globosum* reduces development of tan spot in wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Australasian Plant Pathology* 35: 411-418.
- Jadhav, D., Rekha, B.N., Gogate, P.R., and Rathod, V.K. (2009). Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. *J Food Eng* 93: 421-426.
- Lu, H., Zou, W.X., Meng, J.C., Hu, J., and Tan, R.X. (2000). New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Science* 151: 67-73.
- Ma, Y., Chang, Z.Z., Zhao, J.T., and Zhou, M.G. (2008). Antifungal activity of *Penicillium striatisporum* Pst10 and its biocontrol effect on *Phytophthora* root rot of chilli pepper. *Biological Control* 44: 24-31.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไป 53

- Malmström, J., Christophersen, C., Barrero, A.F., Oltra, J.E., Justicia, J. and Rosales, A. (2002). Bioactive Metabolites from a marine-derived strain of the fungus *Emericella varicolor*. *Journal of Natural Product* 65(3): 364-367.
- Mejía, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Bael, S.V., Arnold, A.E., Hebbar, P., Samuels, G.J., Robbins, N. and Herre, E.A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control* 44: 4-14.
- Moosophon, P., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., and Soyong, K. (2009). Chemical constituents from crude hexane and EtOAc extracts of *Emericella nidulans*. Available: http://www.scisoc.or.th/stt/32/sec_c/paper/stt32_C3_C0214.pdf. Accessed June. 25, 2009.
- Nakamura, M., Hayasaki, Y., Ryosho, S., and Iwai, H. (2008). Anthracnose of belmore sentry palm (*Howea belmoreana* Becc.) caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig et Saccardo. *Journal of General Plant Pathology* 74: 86-87.
- Park, J.H., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Kim, H.T., Cho, K.Y., and Kim, J.C. (2005). Antifungal activity against plant pathogenic fungi of chaetoviridins isolated from *Chaetomium globosum*. *FEMS Microbiology Letters* 252: 309-313.
- Phongpaichit, S., Rungjindamai, N., Rukachaisirikul, V., and Sakayaroj, J. (2006). Antimicrobial activity in cultures of endophytic fungi isolated from *Garcinia* species. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 48(3): 367-372.
- Phonkerd, N., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Soyong, K., Prabpai, S., and Kongsearee, P. (2008). Bis-spiro-azaphilones and azaphilones from the fungi *Chaetomium cochliodes* VTh01 and *C. cochliodes* CTh05. *Tetrahedron* 64: 9,636-9,645.
- Podstolski, A., Frenkel, D.H., Malinowski, J., Blount, J.W., Kourteva, G., and Dixon, R.A. (2002). Unusual 4-hydroxybenzaldehyde synthase activity from tissue cultures of the vanilla orchid *Vanilla planifolia*. *Phytochemistry* 61: 611-620.
- Pongcharoen, W., Rukachaisirikul, V., Phongpaichit, S., Kühn, T., Pelzing, M., Sakayaroj, J., and Taylor, W.C. (2008). Metabolites from the endophytic fungus *Xylaria* sp. PSU-D14. *Phytochemistry* 69: 1,900-1,902.
- Prabavathy, V.R., Mathivanan, N., and Murugesan, K. (2006). Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PM5. *Biological Control* 39: 313-319.
- Qin, J.C., Zhang, Y.M., Gao, J.M., Bai, M.S., Yang, S.X., Laatsch, H., and Zhang, A.L. (2009). Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus isolated from *Ginkgo biloba*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19: 1,572-1,574.
- Ratanacherdchai, K. and Soyong, K. (2004). A study of vanilla diseases in Thailand. Proc. of the 1st KMITL International Conference on Intergration of Science & Technology for sustainable development, Bangkok, Thailand. 25-26 August 2004., p. 232-235.
- Rukachaisirikul, V., Sommart, U., Phongpaichit, S., Sakayaroj, J., and Kirtikara, K. (2008). Metabolites from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. PSU- D15. *Phytochemistry* 69: 783-787.
- Sibounnavong, P., Cynthia, C.D., Kanokmedhakul, S., and Soyong, K. (2008). The new antagonistic fungus, *Emericella nidulans* strain EN against Fusarium Wilt of Tomato. *J Agr Tech* 4(1): 89-99.
- Soyong, K. (1991). Antagonism of *Chaetomium globosum* to leaf spot disease of corn. The 29th Kasetsart University Annual Conference, Thailand, February 4-7, 1991, p. 269-275.
- Soyong, K. and Quimio, T.H. (1989). Antagonism of *Chaetomium globosum* to the rice blast pathogen, *Pyricularia oryzae*. *Kasetsart J. (Natural Sci)* 23(2): 198-203.
- Soyong, K., Pongnak, W. and Kasiolarn, H. Biological control of *Thielaviopsis* bud rot of *Hyophorbe lagenicaulis* in the field. (2005). *J Agr Tech* 1(2): 235-245.

- Soytong, K. and Rattanacherdchai, K. (2008). Vanilla disease in Thailand. *Res Devel J* 1(1): 22-25.
- Srinon, W., Chuncheon, K., Jirattiwatukul, K., Soytong, K., and Kanokmedhakul, S. (2006). Efficacies of antagonistic fungi against *Fusarium* wilt disease of cucumber and tomato and the assay of its enzyme activity. *J Agr Tech* 2(2): 191-201.
- Tan, H.M., Cao, L.X., He, Z.F., Su, G.J., Lin, B., and Zhou, S.N. (2006). Isolation of endophytic actinomycetes from different cultivars of tomato and their activities against *Ralstonia solanacearum* in vitro. *World J Microb Biot* 22: 1275-1280.
- Thongsri, V. and Soytong, K. (2004). A study on *Nigrospora* sp. strain L-03, A new potential antagonist to plant pathogenic fungi. Proc. of The 1st KMITL International Conference on Intergration of Science & Technology for sustainable development; Bangkok, Thailand; August 25-26, 2004, 2:25-29.
- Udomratsak, A. and Soytong, K. (2004). Testing on biological products and *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose resistance to azoxystrobin. Proc. of The 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for sustainable Development; Bangkok, Thailand; August 25-26, 2004, 2:236-239.
- Valois, D., Fayod, K., Barasubiye, T., Garon, M., Déry, C., Brzezinski, R., and Beaulieu, C. (1996). Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the causal agent of raspberry root rot. *Applied and Environmental Microbiology* 62(5): 1,630-1,635.
- Verhaar, M.A., Hijwegen, T. and Zadoks, J.C. (1999). Improvement of the efficacy of *Verticillium lecanii* used in biocontrol of *Sphaerotheca fuliginea* by addition of oil formulations. *Biocontrol* 44: 73-87.
- Waliszewski, K.N., Pardio, V.T. and Ovando, S.L. (2006). A simple and rapid HPLC technique for vanillin determination in alcohol extract. *Food Chemistry* 101: 1,059-1,062.
- Walton, N.J., Mayer, M.J. and Narbad, A. (2003). Vanillin. *Phytochemistry* 63: 505-515.

(Received 12 August 2009; accepted 5 November 2009)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวจุฬาลักษณ์ ตลับนาค เกิดเมื่อวันที่ 21 กันยายน พ.ศ. 2527 ที่จังหวัดลพบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช จากภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2544 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2549

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

1. จุฬาลักษณ์ ตลับนาค และ เกษม สร้อยทอง. 2552. “การควบคุมโรคแอนแทรกคโนสของวานิลลา (*Vanilla pififera* Holttum) โดยใช้เชื้อรา *Emericella nidulans*.” วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 18(2) : 25-34.
2. Talubnak, C. and Soyong, K. 2007. “Preliminary study of endophytic fungi from vanilla.” pp. 613-614. In **International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology**. Bangkok, Thailand.
3. Talubnak, C. and Soyong, K. 2010. “Biological control of vanilla anthracnose using *Emericella nidulans*.” **Journal of Agricultural Technology**. 6(1) : 47-55.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้